Durante mais de 20 anos, desde que foi publicado em 1983, o Manual de Segurança Biológica nos Laboratórios tem sido uma fonte de orientações práticas sobre técnicas de segurança biológica para os laboratórios de todos os níveis. Boas Técnicas de Microbiologia e a utilização apropriada do equipamento de protecção por parte de um pessoal bem formado continuam a ser os elementos fundamentais da segurança biológica laboratorial. No entanto, a globalização, os progressos consideráveis da tecnologia, a emergência de novas doenças e as ameaças graves que constituem a utilização e libertação intencionais de agentes microbiológicos e toxinas obrigaram a uma revisão dos procedimentos em vigor. Nesta nova edição, o Manual foi portanto alvo de uma ampla revisão e expansão do seu âmbito.

O Manual abrange agora a avaliação dos riscos e a utilização segura da tecnologia de recombinação de ADN, e fornece igualmente orientações para a fiscalização e certificação dos laboratórios. Foram igualmente introduzidos conceitos de biosegurança e os mais recentes regulamentos internacionais para o transporte de substâncias infecciosas. Documentação sobre segurança em laboratórios de unidades de saúde, publicada anteriormente pela OMS noutras publicações, foi igualmente incorporada no Manual.

Esperamos que o Manual continue a estimular os países a introduzir programas de segurança biológica e códigos nacionais de procedimentos para o manuseamento seguro de materiais potencialmente infecciosos.

ISBN 92 4 254650 1

MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO TERCEIRA EDIÇÃO **OMS**

MANUAL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA EM LABORATÓRIO

Terceira edição

Organização Mundial da Saúde

Manual de segurança biológica em laboratório

Terceira edição

Organização Mundial da Saúde
Genebra
2004

Catalogação pela Biblioteca da OMS

Organização Mundial da Saúde
Manual de segurança biológica em laboratório – 3ª edição

1.Confinamento de riscos biológicos – métodos 2.Laboratórios – padrões 3.Infecção em laboratório – prevenção e controlo 4.Manuais I.Título.

ISBN 92 4 154650 6 (Classificação LC/NLM: QY 25) WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11

Esta publicação foi apoiada com uma subvenção Grant/Cooperative Agreement Number U50/CCU012445-08 dos Centros para Controlo e Prevenção de Doenças (CDC), Atlanta, GA, EUA. A responsabilidade pelas informações contidas nesta publicação cabe exclusivamente aos seus autores e não representam necessariamente o ponto de vista oficial dos CDC.

Desenhado por minimum graphics
Impresso em Malta

Índice

Prefácio

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece há muito tempo que a segurança, e particularmente a segurança biológica, são questões importantes a nível internacional; a primeira edição do Manual de Segurança Biológica em Laboratório foi publicada em 1983. Este manual estimulava os países a aceitar e introduzir conceitos básicos de segurança biológica e a elaborar códigos nacionais de procedimentos para um manuseamento seguro dos microrganismos patogénicos nos laboratórios dentro dos seus territórios. Desde essa data (1983), numerosos países têm utilizado as orientações fornecidas no manual para elaborar os referidos códigos. Em 1993 foi publicada a segunda edição.

Nesta terceira edição do manual, a OMS continua a desempenhar o seu papel de liderança internacional no campo da segurança, ao abordar as questões de **protecção e de segurança biológicas**, que temos de enfrentar no novo milénio. Nesta terceira edição sublinha-se devidamente a importância da responsabilidade pessoal; acrescentaram-se novos capítulos sobre a avaliação dos riscos, a utilização segura da tecnologia ADN recombinante e o transporte de materiais infecciosos. Os recentes acontecimentos mundiais revelaram novas ameaças à saúde pública, através da utilização e libertação intencionais de agentes microbiológicos e toxinas; em consequência, nesta edição introduziram-se conceitos de protecção biológica – protecção dos recursos biológicos contra roubo, perda ou desvio que possam levar à utilização inapropriada desses agentes como ameaça à saúde pública. Esta nova edição engloba igualmente informações sobre segurança extraídas da publicação da OMS "Safety in Health Care Laboratories" (1997).

A terceira edição do Manual da OMS sobre Segurança Biológica em Laboratórios é uma referência útil e um guia para os países que aceitam o desafio de elaborar e estabelecer códigos nacionais de procedimentos para um manuseamento seguro dos recursos microbiológicos, assegurando simultaneamente a sua disponibilidade para fins clínicos, epidemiológicos e de investigação.

Dr. A. Asamoa-Baah
Director-Geral Adjunto
Doenças Transmissíveis
Organização Mundial de Saúde
Genebra – Suíça

Agradecimentos

A elaboração desta terceira edição do *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* foi possível graças às competências das pessoas a seguir nomeadas e a quem apresentamos os nossos profundos agradecimentos:

Dr. W. Emmett Barkley, Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD, USA

Dr. Murray L. Cohen, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA (reformado)

Dr. Ingegerd Kallings, Swedish Institute of Infectious Disease Control, Stockholm, Sweden

Sra. Mary Ellen Kennedy, Consultant in Biosafety, Ashton, Ontario, Canada

Sra. Margery Kennett, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australia (reformada)

Dr. Richard Knudsen, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dra. Nicoletta Previsani, Biosafety programme, World Health Organization, Geneva, Switzerland

Dr. Jonathan Richmond, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA (reformado)

Dr. Syed A. Sattar, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ontario, Canada

Dra. Deborah E. Wilson, Division of Occupational Health and Safety, Office of Research Services, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Washington, DC, USA

Dr. Riccardo Wittek, Institute of Animal Biology, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland

Também agradecemos a ajuda das seguintes pessoas:

Sra. Maureen Best, Office of Laboratory Security, Health Canada, Ottawa, Canada

Dr. Mike Catton, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australia

Dr. Shanna Nebsy, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dr. Stefan Wagener, Canadian Science Centre for Human and Animal Health, Winnipeg, Canada

Os autores e os revisores também desejam agradecer aos numerosos especialistas que contribuiram para a primeira e segunda edições do *Manual de Segurança Biológica em Laboratório* assim como para a publicação da OMS *Safety in health-care laboratories* (1997).

1. Princípios gerais

Introdução

Neste manual, faz-se referência aos perigos relativos de microrganismos infecciosos, por grupos de risco (Grupos de Risco 1, 2, 3 e 4 da OMS). **Esta classificação só deve ser utilizada em trabalho laboratorial.** No quadro a seguir descrevem-se os grupos de risco.

Quadro 1. ***Classificação de microrganismos infecciosos por grupo de risco***

Grupo de Risco 1 (nenhum ou baixo risco individual e colectivo)
Um microrganismo que provavelmente não pode causar doença no homem ou num animal.

Grupo de Risco 2 (risco individual moderado, risco colectivo baixo)
Um agente patogénico que pode causar uma doença no homem ou no animal, mas que é improvável que constitua um perigo grave para o pessoal dos laboratórios, a comunidade, o gado ou o ambiente. A exposição a agentes infecciosos no laboratório pode causar uma infecção grave, mas existe um tratamento eficaz e medidas de prevenção e o risco de propagação de infecção é limitado.

Grupo de Risco 3 (alto risco individual, baixo risco colectivo)
Um agente patogénico que causa geralmente uma doença grave no homem ou no animal, mas que não se propaga habitualmente de uma pessoa a outra. Existe um tratamento eficaz, bem como medidas de prevenção.

Grupo de Risco 4 (alto risco individual e colectivo)
Um agente patogénico que causa geralmente uma doença grave no homem ou no animal e que se pode transmitir facilmente de uma pessoa para outra, directa ou indirectamente. Nem sempre está disponível um tratamento eficaz ou medidas de prevenção.

As instalações laboratoriais designam-se por: laboratório de base – Nível 1 de segurança biológica; laboratório de base – Nível 2 de segurança biológica, de confinamento – Nível 3 de segurança biológica, de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica. Estas designações baseiam-se num conjunto de características de concepção, estruturas de confinamento, equipamento, práticas e normas operacionais necessárias para trabalhar com agentes de diversos grupos de risco. No quadro 2 relacionam-se **mas não se « equacionam »** os grupos de risco aos níveis de segurança biológica dos laboratórios que devem trabalhar com os organismos em cada grupo de risco.

Os países (regiões) devem estabelecer uma classificação nacional (regional) dos microrganismos, por grupo de risco, levando em consideração:

Quadro 2. ***Relação dos grupos de risco com níveis de segurança biológica, práticas e equipamento***

GRUPO DE RISCO	NÍVEL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	TIPO DE LABORATÓRIO	PRÁTICAS DE LABORATÓRIO	EQUIPAMENTO DE PROTECÇÃO
1	Básico – Nível 1 de segurança biológica	Ensino básico, pesquisa	BTM	Nenhum; mesa/ bancada de trabalho
2	Básico – Nível 2 de segurança biológica	Serviços básicos de saúde; serviços de diagnóstico, pesquisa	BTM e fatos de protecção, sinal de perigo biológico	Bancada de trabalho e CSB para aerossóis potenciais
3	Confinamento – Nível 3 de segurança biológica	Serviços especiais de diagnóstico, pesquisa	Como Nível 2, mais roupa especial, acesso controlado, ventilação dirigida	CSB e/ou outros dispositivos primários para todas as actividades
4	Confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica	Serviço de manipulação de agentes patogénicos perigosos	Como Nível 3, mais entrada hermética, saída com duche, eliminação especial de resíduos	CSB classe III ou fatos de pressão positiva em conjunto com CSB classe II, autoclave duas portas (através da parede), ar filtrado

CSB – Câmaras de segurança biológica.
BTM – Boas Técnicas de Microbiologia (ver Parte IV deste Manual).

1. A patogenicidade do organismo
2. O modo de transmissão e raio de acção do organismo. Estes podem ser influenciados pelos níveis de imunidade da população local, pela densidade e movimentos da população atingida, pela presença de vectores apropriados e normas de higiene ambiental.
3. A disponibilidade local de medidas de prevenção eficazes, nomeadamente: profilaxia por vacinação ou administração de antisoros (vacinação passiva); medidas sanitárias (higiene dos alimentos e da água); controlo de reservatórios animais ou vectores artrópodes.
4. A disponibilidade local de tratamento eficaz, nomeadamente vacinação passiva, vacinação pós-exposição e utilização de agentes antimicrobianos, antivirais e quimioterapêuticos, levando em consideração a possibilidade de emergência de estirpes resistentes aos medicamentos.

A atribuição do nível de segurança biológica a um agente num trabalho laboratorial deve basear-se numa avaliação dos riscos. Esta avaliação deve levar em conta o grupo de risco e outros factores ao determinar o nível apropriado de segurança biológica.

Por exemplo, um agente afectado no Grupo de Risco 2 precisa, de um modo geral, de instalações, equipamento, práticas e normas de segurança biológica de Nível 2 para realizar o seu trabalho em segurança. Contudo, se determinadas experiências exigirem a geração de aerossóis de alta concentração, o Nível 3 de segurança biológica pode ser mais apropriado para dar o grau de segurança necessário, visto que assegura uma maior confinamento de aerossóis no ambiente de trabalho do laboratório. O nível de segurança biológica atribuída a um determinado trabalho deve depender de uma avaliação profissional baseada numa estimação dos riscos, em vez da atribuição automática de um nível laboratorial de segurança biológica, de acordo com a designação do grupo de risco atribuído ao agente patogénico a utilizar (ver Capítulo 2).

O Quadro 3 resume as instalações e equipamentos necessários para os 4 níveis de segurança biológica.

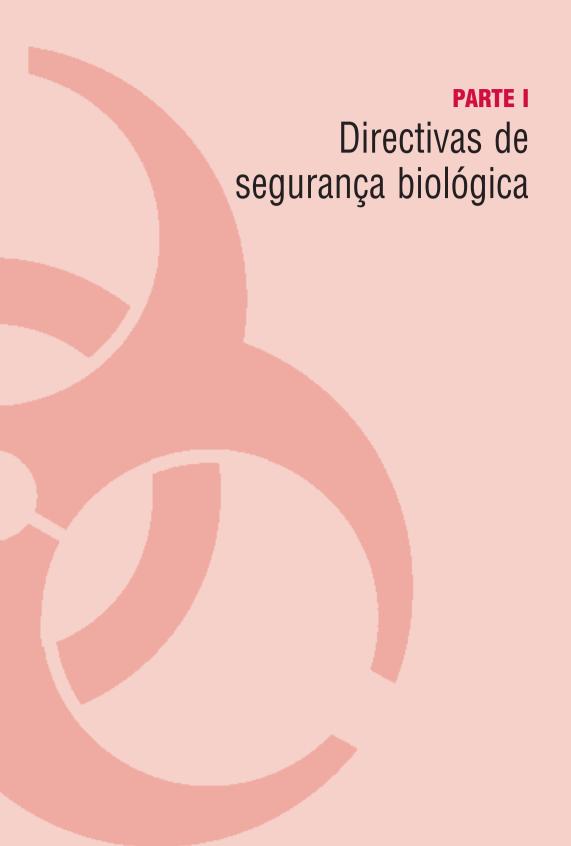
Quadro 3. ***Resumo dos requisitos para os diversos níveis de segurança biológica***

	NÍVEL DE SEGURANÇA BIOLÓGICA			
	1	**2**	**3**	**4**
Isolamento[a] do laboratório	Não	Não	Sim	Sim
Sala selada para descontaminação	Não	Não	Sim	Sim
Ventilação:				
— Adução do ar	Não	Desejável	Sim	Sim
— Sistema ventilação controlada	Não	Desejável	Sim	Sim
— Exaustor com filtro HEPA*	Não	Não	Sim/Não[b]	Sim
Entrada com porta dupla	Não	Não	Sim	Sim
Câmara de vácuo	Não	Não	Não	Sim
Câmara de vácuo com duche	Não	Não	Não	Sim
Antecâmara	Não	Não	Sim	—
Antecâmara com duche	Não	Não	Sim/Não[c]	Não
Tratamento dos efluentes	Não	Não	Sim/Não[c]	Sim
Autoclave				
— in loco	Não	Desejável	Sim	Sim
— numa sala do laboratório	Não	Não	Desejável	Sim
— de duas portas	Não	Não	Desejável	Sim
Câmaras de segurança biológica	Não	Desejável	Sim	Sim
Meios de monitorização da protecção do pessoal[d]	Não	Não	Desejável	Sim

[a] Isolamento ambiental e funcional do trânsito em geral.
[b] Segundo a localização do exaustor (ver Capítulo 4).
[c] Dependente dos agentes utilizados no laboratório.
[d] Por exemplo, janela, circuito fechado de televisão, comunicação em dois sentidos.
* Ar particulado de alta eficiência.

A atribuição do nível de segurança biológica leva em consideração o organismo (agente patogénico) utilizado, as instalações disponíveis, bem como o equipamento, práticas e normas necessárias para trabalhar, com segurança, no laboratório.

PARTE I

Directivas de segurança biológica

2. Avaliação dos riscos microbiológicos

A pedra angular da prática da segurança biológica é a avaliação dos riscos. Embora existam vários meios para ajudar a avaliar os riscos inerentes a uma determinada experiência ou processo, a componente mais importante é a ponderação profissional. A avaliação dos riscos deve ser efectuada pelas pessoas mais familiares com as características específicas dos eventuais organismos, normas, equipamento e modelos animais a utilizar, bem como do equipamento de confinamento e instalações disponíveis. O director do laboratório ou o investigador principal deve assegurar-se da realização de avaliações de riscos adequadas e atempadas e trabalhar em ligação estreita com a comissão de segurança e o pessoal da instituição, a fim de assegurar a disponibilidade de equipamento e instalações apropriadas para apoiar as actividades em questão. Uma vez efectuadas, as avaliações dos riscos devem ser reanalisadas de tempos a tempos e revistas sempre que necessário, tendo em consideração novos dados que tenham um impacto no grau de risco, bem como novas informações pertinentes da literatura científica.

Um dos instrumentos disponíveis mais úteis para efectuar uma avaliação dos riscos microbiológicos é a elaboração de uma lista dos grupos de risco por agentes microbiológicos (ver Capítulo 1). Contudo, a simples referência a um grupo de risco é insuficiente para realizar uma avaliação de riscos. Outros factores devem ser considerados, nomeadamente:

1. Patogenicidade do agente e dose infecciosa
2. Resultado potencial da exposição
3. Via natural da infecção
4. Outras vias de infecção, resultantes de manipulações laboratoriais (parentéricas, via aérea, ingestão)
5. Estabilidade do agente no ambiente
6. Concentração do agente e volume do material concentrado a manipular
7. Presença de um hospedeiro apropriado (humano ou animal)
8. Informação disponível de estudos sobre animais e relatórios de infecções adquiridas em laboratórios ou relatórios clínicos
9. Actividade laboratorial planeada (geração de ultra-sons, produção de aerossóis, centrifugação, etc.)
10. Qualquer manipulação genética do organismo que possa alargar o raio de acção do agente ou alterar a sensibilidade do agente a regimes de tratamento eficazes conhecidos (Ver Capítulo 16)
11. Disponibilidade local de profilaxia eficaz ou intervenções terapêuticas.

De acordo com a informação obtida durante a avaliação dos riscos, pode atribuir-se um nível de segurança biológica à actividade planeada, seleccionar o equipamento de protecção pessoal apropriado e conceber normas-padrão de procedimento englobando outras intervenções de segurança, a fim de assegurar a realização mais segura possível da referida actividade.

Espécimes sobre os quais se dispõe de informações limitadas

O processo de avaliação dos riscos descrito atrás funciona bem quando está disponível uma informação adequada. Porém, há situações em que a informação é insuficiente para efectuar uma avaliação de riscos adequada, por exemplo, no caso de amostras clínicas ou epidemiológicas colhidas no terreno. Nestes casos, é aconselhável adoptar uma abordagem prudente na sua manipulação.

1. Respeitar sempre as precauções-padrão (*2*) e utilizar protecções (luvas, batas, óculos) nos casos de amostras colhidas em pacientes.
2. As normas e procedimentos de confinamento básico – Nível 2 de segurança biológica são o requisito mínimo para manusear amostras.
3. O transporte de amostras deve obedecer às regras e regulamentos nacionais e/ou internacionais.

Certas informações podem ajudar a determinar o risco de manuseamento destes espécimes:

1. Dados médicos sobre o doente
2. Dados epidemiológicos (sobre morbilidade e mortalidade, via provável de transmissão, outros dados de investigação sobre o surto)
3. Informações sobre a origem geográfica do espécime.

Nos casos de surtos de doença de etiologia não conhecida, podem ser elaboradas e enviadas pela Internet (www) directivas ad hoc apropriadas, tanto pelas autoridades nacionais competentes como pela OMS (como foi o caso durante a emergência do síndroma respiratório agudo (SARS) em 2003) indicando como embalar as amostras para transporte e o nível de segurança biológica necessária para análise das mesmas.

Avaliação de riscos e microrganismos geneticamente modificados

No Capítulo 16 encontra-se uma análise detalhada sobre avaliação de riscos e organismos geneticamente modificados (OGM).

3. Laboratórios de base – Níveis 1 e 2 de segurança biológica

Neste manual, as orientações e recomendações apresentadas como requisitos mínimos para os laboratórios de todos os níveis de segurança biológica visam microrganismos nos Grupos de Risco 1 a 4. Embora algumas precauções possam parecer desnecessárias para alguns organismos no Grupo de Risco 1, elas são desejáveis para efeitos de formação, tendo em vista promover Boas (seguras) Técnicas de Microbiologia (BTM).

Os laboratórios para diagnósticos e cuidados de saúde (saúde pública, clínicos ou hospitalares) devem todos ser concebidos para o Nível 2 de segurança biológica, no mínimo. Dado que nenhum laboratório tem um controlo total dos espécimes que recebe, os agentes laboratoriais podem ficar expostos a organismos em grupos de risco mais elevado do que o previsto. Esta possibilidade tem de ser levada em conta na elaboração dos planos e políticas de segurança biológica. Em certos países, os laboratórios clínicos têm de estar oficialmente acreditados. De um modo geral, devem adoptar-se e utilizar-se sempre as precauções-padrão (*2*).

As directivas para laboratórios de base – Níveis 1 e 2 de segurança biológica aqui apresentadas são abrangentes e detalhadas, dado que são fundamentais para os laboratórios de todos os níveis de segurança biológica. Para os laboratórios de confinamento – Nível 3 de segurança biológica, e laboratórios de confinamento máximo – Nível 4, estas directivas foram alvo de modificações e acréscimos tendo em conta o trabalho com agentes patogénicos especialmente perigosos (ver Capítulos 4 e 5 a seguir).

Código de práticas

Este código é uma lista das práticas e normas laboratoriais mais essenciais que estão na base das BTM. Em muitos laboratórios e programas nacionais para laboratórios, pode servir para elaborar práticas e normas escritas para actividades laboratoriais seguras.

Cada laboratório deve adoptar um manual de segurança ou de trabalho, que identifique perigos conhecidos e potenciais e que especifique as práticas e as normas para eliminar ou minimizar esses perigos. As BTM são fundamentais para a segurança dos laboratórios. O equipamento laboratorial especializado é um suplemento dessa segurança, mas não pode substituir as normas apropriadas. A seguir se descrevem os conceitos mais importantes.

Ilustração 1. ***Sinal de risco biológico a afixar nas portas do laboratório***

RISCO BIOLÓGICO

ENTRADA RESERVADA A PESSOAL AUTORIZADO

Nível de segurança biológica : ____________________

Investigador responsável : ______________________

Contacto em caso de emergência : ________________

Telefone de dia : ____________________________

Telefone privado : ___________________________

A autorização para entrar deve ser pedida ao investigador responsável acima nomeado

Acesso

1. O símbolo e o sinal internacionais de risco biológico (Ilustração 1) devem estar expostos nas portas das salas onde se estão a manusear microrganismos do Grupo de Risco 2 ou acima.
2. Só o pessoal autorizado deve entrar nas áreas de trabalho do laboratório.
3. As portas do laboratório devem permanecer fechadas.
4. As crianças não devem poder nem ser autorizadas a entrar nas áreas de trabalho do laboratório.
5. O acesso aos compartimentos de animais requer autorização especial.
6. Nenhum animal deve entrar no laboratório, além dos que se inserem nas actividades do mesmo.

Protecção individual

1. Devem utilizar-se sempre capas, batas ou fatos nos trabalhos de laboratório.
2. Devem utilizar-se luvas apropriadas em todos os trabalhos que impliquem contacto directo ou acidental com sangue, fluidos corporais, materiais potencialmente

infecciosos ou animais infectados. Após utilização, devem tirar-se as luvas de forma asséptica e lavar bem as mãos.
3. O pessoal deve lavar as mãos após manusear material infeccioso e animais, e antes de sair das áreas de trabalho do laboratório.
4. Devem utilizar-se óculos de segurança, viseiras ou outros dispositivos de protecção, sempre que for necessário proteger os olhos e a cara de salpicos, impactos de objectos e raios artificiais ultravioleta.
5. É proibido utilizar roupa de protecção laboratorial fora do laboratório (cantina, cafetaria, escritórios, biblioteca, salas do pessoal e quartos de banho).
6. Sandálias e chinelos não devem ser utilizados nos laboratórios.
7. É proibido comer, beber, fumar, maquilhar-se e pôr lentes de contacto nas áreas de trabalho do laboratório.
8. É proibido guardar comidas e bebidas nas áreas de trabalho do laboratório.
9. A roupa de protecção laboratorial utilizada no laboratório não deve ser guardada nos mesmos cacifos ou armários da roupa normal.

Normas

1. Pipetar com a boca deve ser imperiosamente proibido.
2. Nenhum material deve ser colocado na boca. Não lamber rótulos.
3. Todos os procedimentos técnicos devem ser efectuados de forma a minimizar a formação de aerossóis e gotículas.
4. A utilização de agulhas e seringas hipodérmicas deve ser limitada; estas não devem ser utilizadas como substitutos de pipetas ou qualquer outro fim, além de injecções parentéricas ou aspiração de fluidos de animais de laboratório.
5. Qualquer derrame, acidente, exposição efectiva ou potencial a materiais infecciosos deve ser notificado ao supervisor do laboratório. Deve manter-se um registo escrito de tais acidentes e incidentes.
6. Devem ser elaboradas normas escritas para a limpeza destes derrames e devidamente aplicadas.
7. Os líquidos contaminados devem ser (química ou fisicamente) descontaminados antes de serem lançados nos esgotos sanitários. Pode ser necessário um sistema de tratamento de efluentes, segundo a avaliação de riscos do agente (ou agentes) manuseado.
8. Os documentos escritos susceptíveis de saírem do laboratório precisam de ser protegidos de contaminação dentro do laboratório.

Áreas de trabalho do laboratório

1. O laboratório deve estar arrumado, limpo e sem materiais que não sejam pertinentes para as suas actividades.
2. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas após qualquer derrame de material potencialmente perigoso e no fim de um dia de trabalho.

3. Todos os materiais contaminados, espécimes e culturas devem ser descontaminados antes de serem ejectados ou limpos para reutilização.
4. A embalagem e o transporte devem obedecer aos regulamentos nacionais e/ou internacionais pertinentes.
5. Se as janelas forem de abrir, devem ter redes de protecção contra artrópodes.

Controlo da segurança biológica

1. O director do laboratório (a pessoa que tem a responsabilidade directa do laboratório) é responsável pela elaboração e adopção de um plano de controlo da segurança biológica e de um manual de segurança ou de operações.
2. O supervisor do laboratório (que depende do director do laboratório) deve assegurar-se de que o pessoal recebe uma formação regular em segurança laboratorial.
3. O pessoal deve ser alertado para os perigos especiais e deve ler o manual de segurança ou de operações e seguir as práticas e normas-padrão. O supervisor deve assegurar-se de que o pessoal compreende bem estas instruções. Um exemplar do manual de segurança deve estar disponível no laboratório.
4. O laboratório deve ter um programa de controlo de artrópodes e roedores.
5. O pessoal deve dispor de observação médica, vigilância e tratamento adequados, sempre que necessário, devendo assegurar-se a manutenção do historial médico.

Concepção e instalações do laboratório

Ao conceber um laboratório e atribuir-lhe um determinado número de actividades, deve prestar-se uma atenção especial às condições susceptíveis de provocar problemas de segurança nomeadamente:

1. Formação de aerossóis
2. Actividades com grandes volumes e/ou altas concentrações de microrganismos
3. Sobrelotação de pessoal e equipamento
4. Infestação de roedores e artrópodes
5. Entradas não autorizadas
6. Fluxo de trabalho: utilização de amostras e reagentes específicos.

Nas ilustrações 2 e 3 a seguir, mostram-se exemplos de concepções de laboratórios para os Níveis 1 e 2 de segurança biológica.

Características

1. Espaço amplo para empreender as actividades laboratoriais de forma segura, bem como para a limpeza e manutenção.
2. As paredes, o tecto e o pavimento devem ser lisos, fáceis de limpar, impermeáveis e resistentes a produtos químicos e desinfectantes normalmente utilizados em laboratórios. O pavimento deve ser anti-derrapante.
3. As bancadas devem ser impermeáveis e resistentes a desinfectantes, ácidos, álcalis, solventes orgânicos e calor moderado.

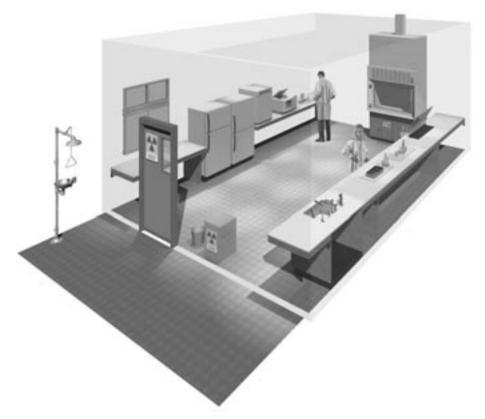



Ilustração 2. ***Laboratório típico para o Nível 1 de segurança biológica***
(gráficos gentilmente cedidas por CUH2A, Princeton, NJ, EUA)

4. A iluminação deve ser adequada a todas as actividades; devem evitar-se reflexos e brilho indesejáveis.
5. O mobiliário deve ser robusto. O espaço entre e debaixo de bancadas, câmaras e equipamentos deve ser acessível para a limpeza.
6. O espaço de armazenamento deve ser apropriado para guardar o material de uso corrente e evitar assim amontoados nas bancadas e passagens. Deve igualmente prever-se um espaço de armazenagem a longo prazo, convenientemente localizado fora da área de trabalho do laboratório.
7. Deve igualmente prever-se espaço e meios para um manuseamento seguro e armazenagem de solventes, material radioactivo e gás comprimido e liquefeito.
8. Devem existir instalações, fora da área de trabalho do laboratório, para guardar roupas e objectos pessoais.
9. Devem igualmente existir, fora da área de trabalho do laboratório, instalações para comer, beber e descansar.

10. Em cada sala de laboratório deve existir um lavatório, se possível com água corrente, e de preferência perto da porta de saída.
11. As portas devem ter painéis transparentes, protecção anti-fogo adequada e de preferência um sistema de fecho automático.
12. No Nível 2 de segurança biológica, deve existir uma autoclave ou outro meio de descontaminação, na proximidade adequada do laboratório.
13. Os sistemas de segurança devem prever o combate a incêndios, emergências eléctricas, chuveiros de emergência e meios de lavagem dos olhos.
14. Devem estar previstas áreas ou salas de primeiros socorros convenientemente equipadas e facilmente acessíveis (ver anexo 1).
15. Ao planear novas instalações, deve examinar-se a possibilidade de prever sistemas de ventilação mecânica que injectem um fluxo de ar sem recirculação. Se não houver ventilação mecânica, as janelas devem ser de abrir e estar equipadas de redes contra artrópodes.
16. É essencial dispor de um abastecimento seguro de água de boa qualidade. Não devem existir inter-conexões entre a água de beber e a água para o laboratório. Deve instalar-se um dispositivo « anti-refluxo » para proteger o sistema de abastecimento de água.
17. Deve haver um fornecimento de electricidade adequado e de confiança e iluminação de emergência que permita uma saída segura. É desejável dispor de um gerador para apoio do equipamento essencial, como incubadoras, câmaras de segurança biológica, congeladores, etc., bem como para a ventilação dos compartimentos dos animais.
18. Deve igualmente dispor-se de um fornecimento de gás adequado e de confiança. A boa manutenção do sistema é imprescindível.
19. Os laboratórios e os compartimentos de animais são ocasionalmente alvo de vandalismo. Deve examinar-se a possibilidade de instalar um sistema de protecção das instalações e contra incêndios. Portas robustas, grades nas janelas e restrição do número de chaves são elementos imprescindíveis. Outras medidas que aumentem a segurança devem ser examinadas e aplicadas, se apropriado.

Equipamento laboratorial

Juntamente com as boas práticas e procedimentos, a utilização do equipamento de segurança ajudará a reduzir os riscos ao enfrentar os perigos inerentes à segurança biológica. Nesta secção, abordam-se os princípios básicos relativos ao equipamento apropriado para os laboratórios dos diversos níveis de segurança biológica. Os requisitos para equipamento de laboratório de um nível de segurança biológica mais elevado são abordados nos capítulos pertinentes.

O director do laboratório, após consulta com o responsável da segurança biológica e a comissão de segurança (se houver), deve assegurar-se da disponibilidade do equipamento adequado e da sua boa utilização. A escolha do equipamento deve levar em conta determinados princípios gerais, nomeadamente:

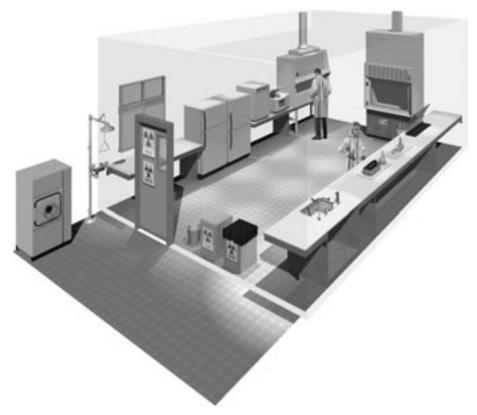



Ilustração 3. ***Laboratório típico para o Nível 2 de segurança biológica***
(gráficos gentilmente cedidos por CUH2A, Princeton, NJ, EUA). As manipulações susceptíveis de gerar aerossóis têm lugar numa câmara de segurança biológica. As portas são mantidas fechadas e com os sinais de perigo apropriados. Os resíduos potencialmente contaminados são separados do sistema geral de evacuação de resíduos.

1. Ser concebido para evitar ou limitar o contacto entre o operador e o material infeccioso
2. Ser construído com materiais impermeáveis aos líquidos, resistentes à corrosão e conformes aos requisitos estruturais
3. Ser fabricado sem asperidades, arestas cortantes e partes-movediças sem protecção
4. Ser concebido, construído e instalado de forma a facilitar o seu manuseamento, manutenção, limpeza, descontaminação e testes de certificação; vidro e outros materiais quebráveis devem ser evitados, sempre que possível.

Pode ser necessário analisar as possibilidades detalhadas de utilização e as especificações de construção do equipamento, para se assegurar que possui as necessárias características de segurança (ver também capítulos 10 e 11).

Equipamento essencial de segurança biológica

1. Meios de pipetar – para evitar pipetar com a boca. Existem as mais diversas formas.
2. Câmaras de segurança biológica, para utilizar sempre que:
   — se manusear material infeccioso; este material pode ser centrifugado no laboratório se forem utilizados copos herméticos de segurança centrífuga e se forem enchidos e esvaziados numa câmara de segurança biológica
   — houver um risco acrescido de infecção por via aérea
   — forem utilizados procedimentos com alto potencial de produção de aerossóis, tais como: centrifugação, moagem, mistura, agitação, separação por ultra-sons, abertura de recipientes com material infeccioso, cuja pressão interna seja diferente da pressão ambiental, inoculação intranasal em animais e colheita de tecidos infecciosos de animais e de ovos.
3. Ansas de plástico descartáveis; podem utilizar-se incineradores de espirais eléctricos, dentro das câmaras de segurança biológica, a fim de reduzir a produção de aerossóis.
4. Tubos e frascos com tampa de rosca.
5. Autoclaves ou outros meios apropriados para descontaminar o material infeccioso.
6. Pipetas Pasteur de plástico, descartáveis, sempre que disponíveis, para evitar o vidro.
7. O equipamento como as autoclaves e as câmaras de segurança biológica precisa de ser validado com métodos apropriados, antes de ser utilizado. A recertificação deve ser feita a intervalos periódicos, segundo as instruções do fabricante (ver Capítulo 7).

Vigilância médica do pessoal

A entidade empregadora, através do director do laboratório, tem de assegurar uma vigilância apropriada da saúde do pessoal do laboratório. O objectivo desta vigilância é controlar o aparecimento de doenças do trabalho. Para o efeito deve:

1. Proceder à vacinação activa ou passiva, sempre que pertinente (ver Anexo 2)
2. Facilitar a detecção precoce das infecções adquiridas no laboratório
3. Excluir as pessoas altamente susceptíveis (grávidas e imunodeficientes) de trabalhos laboratoriais de alto risco
4. Fornecer equipamento e meios de protecção pessoal eficazes.

Directivas para a vigilância do pessoal de laboratório que manuseia microrganismos, ao Nível 1 de segurança biológica

A experiência mostra que não é provável que os microrganismos manuseados a este nível provoquem doença no homem ou doença animal de importância veterinária. Contudo, todo o pessoal de laboratório deve ser submetido a um controlo de saúde

pré-emprego, onde se registe a sua história médica. É aconselhável a notificação imediata de doenças ou acidentes laboratoriais e deve chamar-se a atenção de todo o pessoal para a importância de manter boas técnicas de microbiologia.

Directivas para a vigilância do pessoal de laboratório que manuseia microrganismos ao Nível 2 de segurança biológica

1. É necessário um controlo de saúde antes de assumir as suas funções. Deve registar-se a história médica da pessoa e efectuar-se uma avaliação centrada na saúde ocupacional.
2. A administração do laboratório deve manter registo de doenças e ausências.
3. O pessoal feminino em idade de procriar deve ser avisado dos riscos para o feto inerentes à sua exposição a determinados microrganismos (vírus da rubéola). As medidas exactas a tomar para proteger o feto variam, segundo os microrganismos a que a mãe esteja exposta.

Formação

Erros humanos e más técnicas podem comprometer as melhores salvaguardas de protecção do pessoal de laboratório. Assim, um pessoal consciente da importância da segurança, bem informado sobre a forma de reconhecer e controlar os perigos eventuais nos laboratórios, é uma peça fundamental para prevenir infecções, incidentes e acidentes nos laboratórios. Por este motivo, é essencial assegurar uma formação contínua in loco sobre medidas de segurança. Um programa eficaz de segurança começa pelos responsáveis dos laboratórios que devem assegurar a integração de práticas e procedimentos laboratoriais seguros na formação básica do pessoal. A formação em medidas de segurança deve ser parte integrante da inserção de novos trabalhadores; estes devem familiarizar-se com o código de práticas e directivas do laboratório, incluindo o manual de segurança ou de operações. Devem adoptar-se medidas que assegurem que os novos agentes leram e compreenderam as directivas, tais como assinar certas páginas. Os supervisores dos laboratórios desempenham o papel mais importante na formação do seu pessoal em boas técnicas laboratoriais. O responsável pela segurança biológica pode ajudar na formação e na elaboração de material de formação e de documentação (ver igualmente Capítulo 21).

A formação do pessoal deve sempre incluir informação sobre métodos seguros para situações de alto risco, que o pessoal de laboratório tem frequentemente de enfrentar, nomeadamente:

1. Riscos de inalação (durante a produção de aerossóis, por exemplo) ao utilizar ansas, semear às riscas a gelose, pipetar, fazer esfregaços, abrir frascos de culturas, tirar amostras de sangue/soro, centrifugar, etc.
2. Riscos de ingestão ao manusear amostras, esfregaços e culturas
3. Riscos de perfurações cutâneas ao utilizar seringas e agulhas
4. Mordidelas e arranhões ao manusear animais

5. Manuseamento de sangue e outros materiais patológicos potencialmente perigosos
6. Descontaminação e eliminação de material infeccioso.

Manuseamento de resíduos

Consideram-se como resíduos tudo aquilo que se deve deitar fora.

Nos laboratórios, a descontaminação dos resíduos e a sua eliminação final estão intimamente interligadas. No dia a dia, são poucos ou nenhuns os materiais contaminados que precisam de ser retirados do laboratório ou destruídos. A maior parte dos recipientes de vidro, instrumentos e roupa de laboratório são reutilizados ou reciclados. O princípio dominante é que todo o material infeccioso deve ser descontaminado, esterilizado em autoclave ou incinerado no laboratório.

Antes de deitar fora qualquer objecto ou material de laboratório utilizado em microrganismos ou tecidos animais potencialmente infecciosos, devemos assegurar-nos:

1. Se os referidos objectos ou materiais foram bem descontaminados ou desinfectados segundo as normas em vigor.
2. Na negativa, se foram embalados segundo as normas para a incineração imediata in loco ou transferência para outras instalações com capacidade de incineração.
3. Se a eliminação dos objectos ou materiais descontaminados implica, para as pessoas que procedem à sua eliminação ou que possam entrar em contacto com eles, qualquer outro perigo potencial, biológico ou outro, fora das instalações.

Descontaminação

A esterilização pelo calor, em autoclave, é o método preferencial para todos os processos de descontaminação. O material a descontaminar e eliminar deve ser colocado num recipiente (ex.: sacos de plástico para autoclaves) com cores codificadas, segundo se destinem a autoclaves e/ou incineradores. Outros métodos só podem ser considerados se removerem e/ou matarem os microrganismos (ver Capitulo 14 para mais pormenores).

Normas de manuseamento e eliminação de resíduos e materiais contaminados

Deve adoptar-se um sistema de identificação e separação de materiais e recipientes infecciosos. Devem seguir-se os regulamentos nacionais e internacionais, tendo em conta as seguintes categorias:

1. Resíduos não-contaminados (não-infecciosos) que podem ser reutilizados, reciclados ou eliminados como resíduos « domésticos » ordinários
2. Material cortante contaminado (infeccioso) – agulhas hipodérmicas, escalpelos, facas e vidro partido; este material deve sempre ser arrumado em recipientes antiperfurantes, munidos de tampas, e tratado como material infeccioso
3. Material contaminado para descontaminação em autoclave, lavagem posterior e reutilização ou reciclagem

4. Material contaminado para descontaminação em autoclave e eliminação
5. Material contaminado para incineração directa.

Material cortante

As agulhas hipodérmicas, uma vez utilizadas, não devem ser reintroduzidas nos seus invólucros, partidas ou retiradas das seringas descartáveis. Todo o conjunto deve ser posto num recipiente para descartáveis. As seringas descartáveis, quer utilizadas com ou sem agulhas, devem ser colocadas em recipientes para descartáveis e incineradas, após descontaminação em autoclave, se necessário.

Os recipientes para agulhas descartáveis devem ser resistentes/antiperfurantes e não devem ser totalmente cheios; quando estiverem quase cheios (3/4 da sua capacidade) devem ser postos em contentores para « resíduos infecciosos » e incinerados, após descontaminação em autoclave, se as práticas do laboratório o exigirem. Os recipientes para agulhas descartáveis não devem ser deitados em aterros.

Material contaminado (potencialmente infeccioso) para descontaminação em autoclave e utilização ulterior

Não procurar fazer qualquer prélavagem a este material. Qualquer limpeza ou reparação só pode ser feita após descontaminação em autoclave ou desinfecção.

Material contaminado (potencialmente infeccioso) para eliminação

Com excepção das agulhas, já atrás abordadas, todo o material contaminado (potencialmente infeccioso) deve ser descontaminado em autoclave, em recipientes impermeáveis, por exemplo sacos de plástico para autoclaves com cores codificadas, antes de ser eliminado. Após a descontaminação, o material deve ser colocado em recipientes de transporte para ser levado para o incinerador. O material proveniente de actividades ligadas a cuidados de saúde não deve ser deitado fora em aterros, mesmo que já tenha sido descontaminado. Se o laboratório possuir um incinerador, pode omitir-se a descontaminação em autoclave, colocando os resíduos contaminados em recipientes específicos (com cores codificadas) e levando-os directamente para o incinerador. Os recipientes de transporte reutilizáveis têm de ser impermeáveis e ter tampas herméticas. Devem ser desinfectados e limpos, antes de serem enviados de volta ao laboratório.

Em todos os postos de trabalho devem ser colocados recipientes para descartáveis (baldes ou vasos) de preferência inquebráveis (ex. plástico). Quando se utilizam desinfectantes o material deve permanecer em contacto íntimo com o desinfectante (não protegido por bolhas de ar) o tempo apropriado, segundo o desinfectante utilizado (ver Capitulo 14). Os recipientes para descartáveis devem ser descontaminados e lavados, antes de serem reutilizados.

A incineração de material contaminado deve ser aprovada pelas autoridades de saúde pública e ambiental, bem como pelo responsável da segurança biológica no laboratório (ver Capítulo 14 secção Incineração).

Segurança química, eléctrica, do equipamento e contra incêndios e radiações

Acidentes químicos, eléctricos e provocados por incêndio ou radiação podem provocar uma ruptura no confinamento de organismos patogénicos. É portanto essencial manter altos padrões de segurança nestes domínios, em qualquer laboratório de microbiologia. As regras e regulamentos pertinentes são normalmente estabelecidos pelas autoridades nacionais/locais competentes, a quem se deve solicitar assistência, se necessário. Na Parte IV deste manual (Capítulos 17 e 18) descrevem-se pormenorizadamente os eventuais perigos químicos, eléctricos, de incêndio e radiação.

No Capítulo 11 encontra-se informação adicional sobre equipamentos de segurança.

4. Laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica

O laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica foi concebido e equipado para trabalhar com microrganismos do Grupo de Risco 3 e com grandes quantidades ou altas concentrações de microrganismos do Grupo de Risco 2 que constituem um risco acrescido de propagação de aerossóis. O confinamento ao Nível 3 de segurança biológica exige um reforço dos programas operacionais e de segurança superior ao dos laboratórios básicos – Níveis 1 e 2 de segurança biológica (ver Capítulo 3).

As directivas apresentadas neste capítulo são de facto suplementos às directivas para laboratórios de base – Níveis 1 e 2 de segurança biológica, as quais devem portanto ser aplicadas, antes de aplicar as directivas para os laboratórios de confinamento – Nível 3 de segurança biológica. Os principais acréscimos e alterações encontram-se:

1. No código de práticas
2. Na concepção e instalações do laboratório
3. Na vigilância médica do pessoal.

Esta categoria de laboratórios deve estar registada junto (ou na lista) das autoridades nacionais competentes.

Código de práticas

O código de práticas para os laboratórios de base – Níveis 1 e 2 de segurança biológica é aplicável, excepto nos seguintes casos:

1. O sinal/símbolo internacional de risco biológico (Ilustração 1) colocado nas portas de acesso ao laboratório deve indicar o nível de segurança biológica e o nome do supervisor do laboratório que controla o acesso, bem como definir eventuais condições específicas para entrar na referida área, por exemplo, estar vacinado.
2. A roupa de protecção deve ser do tipo: batas envolventes e com a parte da frente reforçada, fatos de esfrega, capas, gorras e, quando apropriado, protecção de sapatos ou sapatos de laboratório. Batas normais de laboratório, de apertar à frente, não são apropriadas, bem como mangas curtas ou arregaçadas. A roupa de protecção não pode ser utilizada fora do laboratório e tem de ser descontaminada antes de ser lavada. Quando se trabalha com determinados agentes (ex. agrícolas ou zoonóticos) pode ser necessário tirar a roupa toda e vestir-se com roupa específica de laboratório.

3. A manipulação de qualquer material potencialmente infeccioso deve ser realizada numa câmara de segurança biológica ou noutro dispositivo de confinamento primário (ver Capítulo 10).
4. A utilização de material de protecção respiratória pode ser necessária em certos procedimentos laboratoriais ou ao trabalhar com animais infectados com certos agentes patogénicos (ver Capítulo 11).

Concepção e instalações do laboratório

A concepção e instalações para os laboratórios de base – Níveis 1 e 2 de segurança biológica são aplicáveis, excepto nos seguintes casos:

1. O laboratório tem de estar separado de áreas de passagem livre, dentro do edifício. Pode obter-se uma separação adicional, colocando o laboratório na parte sem saída de um corredor, ou construindo uma parede de separação e porta de acesso através de uma antecâmara (ex. entrada de porta dupla ou laboratório de base de Nível 2 de segurança biológica) reservando uma área específica destinada a manter o diferencial de pressão entre o laboratório e o seu espaço adjacente. A antecâmara deve ter instalações para separar a roupa limpa da roupa suja e um chuveiro pode igualmente ser necessário.
2. As portas da antecâmara devem fechar-se automaticamente e estar interligadas, de modo que só possa abrir-se uma de cada vez. Pode prever-se um painel quebrável para utilizar como saída de emergência.
3. As superfícies das paredes, tectos e pavimentos devem ser resistentes à água e fáceis de lavar. As perfurações nessas superfícies (ex. passagens de cabos e canalizações) devem estar seladas para facilitar a descontaminação do local.
4. A sala de laboratório deve poder ser selada para descontaminação. Os sistemas de adução de ar devem ser construídos de modo a permitir a descontaminação por meio de gases.
5. As janelas devem ser fechadas, seladas e inquebráveis.
6. Um lavatório com comandos não manuais deve ser instalado perto das portas de saída.
7. Deve existir um sistema controlável de ventilação com adução de ar para a sala de laboratório. Deve ser instalado um sistema de monitorização visual, com ou sem alarme, para que o pessoal possa sempre assegurar-se do bom funcionamento da ventilação.
8. O sistema de ventilação do edifício deve ser concebido e instalado, de forma que o ar do laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica não seja encami-nhado para outras áreas do edifício. Este ar pode ser filtrado (HEPA – Ar Particulado de Alta Eficiência) recondicionado e recirculado dentro deste laboratório; quando este ar do laboratório (e não o ar das câmaras de segurança biológica) for lançado para o exterior, deve ser expelido longe do edifício e das entradas de ar; dependendo dos agentes utilizados, pode ser expelido através de filtros HEPA. A fim de evitar uma pressurização positiva contínua do laboratório, pode instalar-se um sistema de controlo HVAC (HVAC – Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado). Pode igualmente ponderar-se a possibilidade de

instalar alarmes audíveis ou bem visíveis para informar o pessoal de uma falha no sistema HVAC.

9. Todos os filtros HEPA devem ser instalados de forma a permitir descontaminação por meio de gases e verificação.
10. As câmaras de segurança biológica devem estar situadas longe das zonas de passagem e das correntes de ar provenientes das portas e sistemas de ventilação (ver Capítulo 10).
11. O ar expelido das câmaras de segurança biológica – Classe 1 ou 2 (ver Capítulo 10) e que passou através dos filtros HEPA, tem de ser expelido de forma a evitar interferência com o equilíbrio do ar da câmara ou com o exaustor do edifício.
12. O laboratório de confinamento deve possuir uma autoclave para descontaminar resíduos contaminados. Se for necessário remover resíduos infecciosos do laboratório de confinamento para descontaminação e eliminação, é preciso fazê-los transportar em recipientes selados, inquebráveis e herméticos, segundo os regulamentos nacionais ou internacionais pertinentes.
13. O sistema de abastecimento de água deve estar equipado com dispositivos anti-refluxo. As linhas de vácuo devem ser protegidas com sifões de desinfectantes líquidos e filtros HEPA, ou equivalentes. As bombas de vácuo alternativas devem também ser devidamente protegidas com sifões e filtros.
14. A concepção das instalações e os procedimentos operacionais do laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica devem estar documentados.

Na Ilustração 4 dá-se um exemplo de concepção de um laboratório para o Nível 3 de segurança biológica.

Equipamento laboratorial

Os princípios para a escolha do equipamento do laboratório, incluindo as câmaras de segurança biológica (ver Capítulo 10) são os mesmos que para os laboratórios de base – Nível 2 de segurança biológica. No entanto, no Nível 3 de segurança biológica, o manuseamento de todo o material potencialmente infeccioso tem de ser efectuado dentro de uma câmara de segurança biológica ou outro dispositivo de confinamento primário. Deve igualmente considerar-se equipamento como centrifugadoras, que requerem, no entanto, acessórios de confinamento adicionais, tais como baldes de segurança ou rotores de confinamento. Algumas centrifugadoras e outros equipamentos, como os instrumentos de triagem de células para utilizar com células infectadas, podem precisar de ventilação adicional do exaustor com filtragem HEPA para uma contenção eficaz.

Vigilância médica do pessoal

Os objectivos dos programas de vigilância médica do pessoal para os laboratórios de base – Nível 1 e 2 de segurança biológica também se aplicam aos laboratórios de confinamento – Nível 3 de segurança biológica, excepto nos seguintes casos:

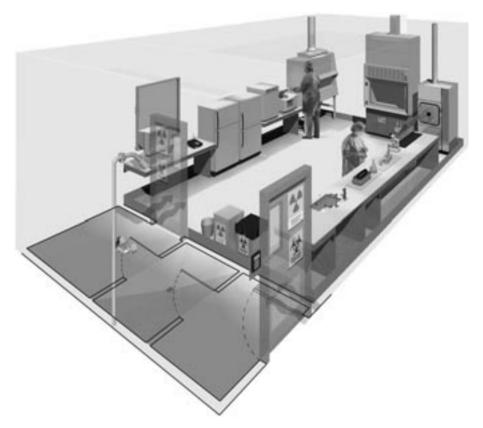



Ilustração 4. ***Laboratório típico para o Nível 3 de segurança biológica***
(gráficos gentilmente cedidos por CUH2A, Princeton, NJ, EUA). O laboratório está separado do local de passagem geral e a ele se acede através de uma antecâmara (que pode ser uma entrada de porta dupla ou um laboratório de base – Nível 2 de segurança biológica) ou uma caixa de ar. O laboratório está equipado de uma autoclave para descontaminação de resíduos antes da sua eliminação, assim como de um lavatório com comandos não manuais. O ar circula do exterior para o interior e todo o trabalho com material infeccioso é realizado numa câmara de segurança biológica.

1. O exame médico de todo o pessoal de laboratório, que trabalha em laboratórios de confinamento – Nível 3 de segurança biológica, é obrigatório. Este exame deve incluir o registo da história clínica detalhada e um exame físico centrado na profissão.
2. Após um exame clínico satisfatório, o agente recebe um cartão de contacto médico (ver Ilustração 5) mencionando que o portador trabalha numa unidade equipada com um laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica. Este cartão deve conter uma fotografia do portador, ter formato de bolso e estar sempre na posse do portador. O nome da pessoa a contactar tem de ser definido no laboratório, mas pode incluir o director do laboratório, o médico assistente e/ou o responsável da segurança biológica.

A. Recto do cartão

Contacto médico

Fotografia do portador

Nome ____________________

____

Para o empregado
Guardar este cartão na sua possessão. No caso de doença febril inexplicável, apresentá-lo ao seu médico e notificar uma das seguintes pessoas segundo a ordem da lista:

Dr. ____________ Tel. profissional ____________

Tel. pessoal ____________

Dr. ____________ Tel. profissional ____________

Tel. pessoal ____________

B. Verso do cartão

Para o médico
O portador deste cartão trabalha para ____________
numa zona onde estão presentes vírus, rickettsias, bactérias, protozoários ou helmintas patogénicos. No caso de um acesso febril inexplicável, queira por favor contactar o patrão para obter informações sobre os agentes aos quais o empregado pode ter sido exposto.

Nome do laboratório: ____________

Endereço: ____________

____

____

Tel.: ____________

Ilustração 5. ***Modelo proposto de cartão médico***

5. Laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica

O laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica foi concebido para trabalhar com microrganismos do Grupo de Risco 4. Antes de construir e pôr a funcionar um laboratório deste tipo, deve proceder-se a amplas consultas com as instituições que têm a experiência de trabalhar com instalações semelhantes. Os laboratórios operacionais de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica devem estar sob o controlo das autoridades sanitárias nacionais ou organismos equivalentes. A informação a seguir apresentada deve ser considerada como material de introdução. As entidades que procuram criar um laboratório deste tipo devem contactar o programa de Segurança Biológica da OMS para obter informações adicionais[1].

Código de práticas

O código de práticas para o Nível 3 de segurança biológica é aplicável, excepto nos seguintes casos:

1. Deve aplicar-se a regra de trabalho « a dois », isto é nenhuma pessoa pode trabalhar sozinha. Isto é particularmente importante quando se trabalha nas instalações de Nível 4 de segurança biológica onde é preciso trabalhar com fatos pressurizados.
2. É necessário mudar totalmente de roupa e de sapatos antes de entrar e de sair do laboratório.
3. O pessoal deve receber uma formação em técnicas de extracção de emergência, em caso de ferimentos ou doença.
4. Deve existir um método de comunicação entre o pessoal que está a trabalhar no laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica e o restante pessoal do laboratório, para contactos de rotina e casos de emergência.

Concepção e instalações do laboratório

As características de um laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica também se aplicam ao laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica, acrescentando-se as seguintes:

---

[1] Biosafety programme, Departement of Communicable Disease Surveillance and Response, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland (http://www.who.int/csr/).

1. ***Confinamento primário.*** Deve existir um sistema eficaz de confinamento primário, composto por um ou uma combinação dos seguintes requisitos:
   — *Laboratório com câmaras de Classe 3* – É necessário passar por duas portas, no mínimo, antes de entrar nas salas que contêm câmaras de segurança biológica – Classe 3 (Sala de câmaras). Nesta configuração laboratorial, as câmaras de segurança biológica – Classe 3 constituem o confinamento primário. É necessário um chuveiro nos vestiários internos e externos. O material e os abastecimentos que não entrem na sala das câmaras pelos vestiários, são introduzidos através de uma autoclave ou câmara de fumigação de duas portas. Uma vez a porta exterior bem fechada, o pessoal dentro do laboratório pode abrir a porta interior para retirar o material. As portas da autoclave ou da câmara de fumigação são concebidas de forma a que a porta exterior não se possa abrir antes da autoclave ter terminado o ciclo de esterilização ou da câmara de fumigação ter sido descontaminada (ver Capítulo 10).
   — *Laboratório para trabalhos com fatos pressurizados* – A concepção e as instalações de um laboratório com fatos pressurizados com aparelhos de respiração incorporados diferem significativamente das do laboratório de Nível 4 de segurança biológica com câmaras de segurança biológica – Classe 3. As salas deste tipo de laboratório são concebidas de forma a encaminhar o pessoal através dos vestiários e zonas de descontaminação, antes de penetrar nas áreas onde se manuseiam os materiais infecciosos. É necessário instalar um chuveiro de descontaminação dos fatos para uso obrigatório do pessoal que sai da zona de confinamento. À entrada e à saída dos vestiários, existem igualmente duches para o pessoal. O pessoal que vai trabalhar na zona onde se trabalha com fatos pressurizados tem de se equipar com um fato hermético, de pressão positiva, com filtro HEPA e dispositivo de respiração; o sistema de fornecimento de ar tem de ter uma capacidade 100% redundante com uma fonte independente, para utilização em caso de emergência. A entrada no laboratório é feita através de uma câmara de vácuo com portas herméticas. O laboratório deve possuir um sistema apropriado de alerta para o pessoal que aí trabalha, para utilização em caso de ruptura num dos sistemas (ver Capítulo 10).
2. ***Acesso controlado.*** O laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica deve estar situado num edifício independente ou numa zona bem delimitada, dentro de um edifício seguro. A entrada e saída do pessoal e dos abastecimentos é feita através de uma câmara de vácuo ou sistema de filtros. Ao entrar, o pessoal tem de mudar completamente de roupa; ao sair, tem de tomar duche antes de vestir a sua própria roupa.
3. ***Sistema de ar controlado.*** Nas instalações é preciso manter pressão negativa. Tanto à admissão como à evacuação, o ar tem de ser processado através de um filtro HEPA. Há diferenças significativas nos sistemas de ventilação do laboratório com câmaras de Classe 3 e do laboratório com fatos pressurizados:

— *Laboratório com câmaras de Classe 3* – O ar fornecido à câmara de segurança biológica de Classe 3 pode ser extraído da própria sala de laboratório, através de um filtro HEPA instalado na câmara ou enviado directamente pelo sistema de abastecimento de ar. O ar expelido da câmara de segurança biológica de Classe 3 tem de passar através 2 filtros HEPA, antes de ser lançado para o exterior. A câmara deve funcionar sempre a uma pressão negativa em relação ao laboratório. É necessário um sistema de ventilação própria não-recirculante para o laboratório de câmaras.

— *Laboratório para trabalhos com fatos pressurizados* – São necessários sistemas próprios de fornecimento e de expulsão do ar. Há um equilíbrio entre as componentes « fornecimento » e « expulsão » do sistema de ventilação, de modo a permitir um fluxo de ar dirigido, desde a área de menor perigo para a área ou áreas de maior perigo potencial. São necessários exaustores em abundância para assegurar que as instalações permanecem sempre em pressão negativa. As pressões diferenciais dentro do laboratório e entre o laboratório e as zonas adjacentes devem ser monitorizadas. O fluxo de fornecimento e expulsão de ar do sistema de ventilação tem de ser monitorizado e deve utilizar-se um sistema apropriado de controlo para evitar a pressurização do laboratório. É necessário assegurar o fornecimento de ar filtrado HEPA à área onde se usam os fatos pressurizados, ao chuveiro de descontaminação, e às câmaras de vácuo ou de descontaminação. O ar expelido deste laboratório tem de ser processado através de um conjunto de 2 filtros HEPA, antes de ser lançado no exterior. Como alternativa, após a passagem pelos 2 filtros HEPA, o ar pode ser recirculado mas apenas dentro do laboratório com fatos pressurizados. Em nenhuma circunstância, o ar evacuado de um laboratório de segurança biológica de nível 4 deve ser recirculado para outros locais. Ao optar-se pela recirculação do ar num laboratório com fatos pressurizados, devem tomar-se as maiores precauções. Devem levar-se em conta os tipos de pesquisa feita, equipamento, produtos químicos e outros materiais utilizados no laboratório, bem como espécies animais eventualmente envolvidas na(s) pesquisa(s).

Todos os filtros HEPA precisam de ser testados e certificados anualmente. Os receptáculos dos filtros HEPA foram concebidos para permitir uma descontaminação in loco antes de retirar os filtros. Como alternativa, pode remover-se o filtro e colocá-lo num recipiente selado à prova de gás, para uma posterior descontaminação e/ou incineração.

4. ***Descontaminação de efluentes.*** Todos os efluentes da área de fatos pressurizados, câmara de descontaminação, chuveiro de descontaminação ou câmara de segurança biológica – Classe 3 têm de ser descontaminados antes de serem definitivamente eliminados. O tratamento por calor é o método de eleição. Os efluentes podem também precisar de uma correcção para um PH neutro antes da sua eliminação. As águas dos duches e retretes podem ser deitadas directamente nos esgotos sem tratamento.

5. ***Esterilização de resíduos e material.*** No laboratório, deve existir uma autoclave de duas portas (à frente e atrás). Devem existir igualmente outros métodos de descontaminação para artigos e equipamento que não suportam a esterilização por vapor.
6. ***Pontos de entrada*** para amostras, material e animais devem igualmente estar previstos.
7. ***Sistema de emergência*** e linha(s) própria(s) de fornecimento de energia devem estar previstas.
8. ***Drenos de confinamento*** devem estar instalados.

Devido à grande complexidade da concepção e construção de instalações de Nível 4 de segurança biológica, quer do tipo câmara ou fato pressurizado, não se incluíram representações esquemáticas de tais instalações.

Devido à grande complexidade do trabalho nos laboratórios de Nível 4 de segurança biológica, deve elaborar-se, em separado, um manual de trabalho detalhado, e testado em seguida em exercícios de formação. Por outro lado, deve conceber-se um programa de emergência (ver Capítulo 13). Para preparar este programa, deve estabelecer-se uma cooperação activa com as autoridades sanitárias nacionais e locais. Devem igualmente envolver-se outros serviços de emergência, por exemplo: bombeiros, polícia e hospitais designados.

6. Instalações laboratoriais para animais

Todos os que utilizam animais para fins experimentais e de diagnóstico têm a obrigação moral de tomar todas as precauções para evitar infligir-lhes dor e sofrimento desnecessários. Os animais devem ter alojamentos higiénicos e confortáveis e comida e água salubres e apropriadas. No final das experiências devem ser tratados com humanidade.

Por razões de segurança, o alojamento dos animais deve ser uma unidade independente e separada. Se for adjacente a um laboratório, a sua concepção deve prever o seu isolamento das partes públicas do laboratório, se tal for necessário, bem como a sua descontaminação e desinfestação.

Quadro 4. ***Níveis de confinamento das instalações para animais: resumo das práticas e equipamento de segurança.***

GRUPO DE RISCO	NÍVEL DE CONFINAMENTO	PRÁTICAS LABORATORIAIS E EQUIPAMENTO DE SEGURANÇA
1	NSBIA – 1	Acesso limitado, roupa de protecção e luvas
2	NSBIA – 2	Práticas de NSBIA – 1 mais: sinais de alerta para perigos. CSB – Classe 1 e 2 para actividades que produzem aerossóis. Descontaminação de resíduos e alojamentos antes de lavar.
3	NSBIA – 3	Práticas de NSBIA – 2 mais: acesso controlado. CSB e roupa de protecção especial para todas as actividades
4	NSBIA – 4	Práticas de NSBIA – 3 mais: acesso estritamente limitado. Mudar de roupa antes de entrar. CSB – Classe 3 ou fatos de pressão positiva. Duche à saída. Descontaminação de todos os resíduos antes da sua remoção da instalação.

NSBIA – Nível de segurança biológica em instalações para animais.
CSB – Câmaras de segurança biológica.

As instalações para animais, tal como os laboratórios, podem ser classificadas de Nível 1, 2, 3 e 4 de segurança biológica de instalações para animais, segundo a avaliação do risco e o grupo de risco dos microrganismos a serem investigados.

Quanto aos agentes a utilizar no laboratório animal, devemos considerar os seguintes factores:

1. A via normal de transmissão
2. As quantidades e concentrações a utilizar
3. A via de inoculação
4. Se estes agentes podem ser excretados e qual a via.

No que se refere aos animais a utilizar em laboratório, devemos considerar os seguintes factores:

1. A natureza dos animais (agressividade e tendência para morder e arranhar)
2. Os seus ecto- e endoparasitas naturais
3. As zoonoses a que são susceptíveis
4. A possível disseminação de alérgenos.

Tal como nos laboratórios, os requisitos para as características de concepção, equipamentos e precauções a tomar tornam-se mais rigorosos, segundo o nível de segurança biológica. Estes níveis, já resumidos no Quadro 4, descrevem-se a seguir. Estas directivas são de carácter aditivo, isto é: cada nível superior engloba automaticamente as normas do nível inferior, acrescentando-lhe as suas próprias normas.

Instalação para animais – Nível 1 de segurança biológica

Este nível é adequado para a manutenção da maior parte dos animais após quarentena (excepto primatas não humanos, sobre os quais se deve consultar as autoridades nacionais) e para os animais que foram deliberadamente inoculados com agentes do Grupo de Risco 1. São necessárias boas técnicas de microbiologia. O director das instalações para animais tem de estabelecer políticas, procedimentos e protocolos para todas as operações e para o acesso ao viveiro. Deve ser estabelecido um programa de vigilância médica apropriada para o pessoal. Deve igualmente preparar-se e adoptar-se um manual de segurança ou de operações.

Instalação para animais – Nível 2 de segurança biológica

Este nível é adequado para trabalhar com animais que foram deliberadamente inoculados com microrganismos do Grupo de Risco 2. As seguintes precauções de segurança são aplicáveis:

1. É necessário observar todos os requisitos estabelecidos para o Nível 1 de segurança biológica.
2. Devem afixar-se sinais de risco biológico (ver Ilustração 1) nas portas e outros locais apropriados.
3. A instalação deve ser concebida de forma a facilitar a sua limpeza e manutenção.
4. As portas devem abrir para dentro e fechar automaticamente.
5. O aquecimento, a ventilação e a iluminação devem ser adequados.
6. Se houver ventilação, o fluxo do ar deve ser dirigido para o interior. O ar usado deve ser expelido e não recirculado para qualquer outra parte do edifício.
7. O acesso deve ser restringido ao pessoal autorizado.

8. Nenhum animal deve entrar nas instalações, além daqueles utilizados em experiências.
9. Deve existir um programa de controlo de roedores e artrópodes.
10. As janelas, se houver, devem ser seguras, inquebráveis e, se forem de abrir, devem estar equipadas com redes contra artrópodes.
11. As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas com desinfectantes eficazes, após utilização (ver Capítulo 14).
12. Câmaras de segurança biológica (Classes 1 e 2) ou caixas isolantes com fornecimento de ar e exaustores com HEPA são necessárias para trabalhos que impliquem eventualmente a produção de aerossóis.
13. Deve existir uma autoclave in loco ou na proximidade adequada da instalação.
14. Os forros para instalação dos animais devem ser retirados de forma a minimizar a produção de aerossóis e pó.
15. Todos os resíduos e forros têm de ser descontaminados antes de eliminados.
16. A utilização de instrumentos cortantes deve ser limitada, sempre que possível. O material cortante deve ser recolhido em recipientes não perfuráveis com tampas e tratado como material infeccioso.
17. O material destinado a autoclaves ou incineração tem de ser transportado de forma segura, em recipientes fechados.
18. As caixas/gaiolas têm de ser descontaminadas, após utilização.
19. As carcaças dos animais devem ser incineradas.
20. O pessoal tem de utilizar roupa e equipamento de protecção nas instalações e retirá-los antes de sair.
21. Devem existir lavatórios na instalação e o pessoal tem de lavar as mãos antes de sair.
22. Qualquer ferimento, por mais pequeno que seja, tem de ser tratado apropriadamente, notificado e registado.
23. Comer, beber, fumar e maquilhar-se é formalmente proibido nas instalações.
24. Todo o pessoal tem de receber uma formação apropriada.

Instalação para animais – Nível 3 de segurança biológica

Este nível é adequado para trabalhar com animais que foram deliberadamente inoculados com agentes do Grupo de Risco 3, ou quando indicado de outra forma por uma avaliação dos riscos. Todos os sistemas, práticas e procedimentos precisam de ser revistos e certificados de novo, todos os anos.

As seguintes precauções de segurança são aplicáveis:

1. É necessário observar todos os requisitos estabelecidos para os Níveis 1 e 2 de segurança biológica.
2. O acesso tem de ser rigorosamente controlado.
3. A instalação tem de estar separada de outras zonas de alojamento e do laboratório por uma sala com uma entrada de duas portas, formando uma antecâmara.

4. A antecâmara deve dispor de lavatórios.
5. A antecâmara deve dispor de chuveiros.
6. É necessária uma ventilação mecânica para assegurar um fluxo de ar contínuo através de todas as salas. O ar usado tem de passar por filtros HEPA antes de ser lançado para o exterior sem recircular. O sistema tem de ser concebido de forma a evitar um refluxo acidental e uma pressurização positiva em qualquer parte do alojamento animal.
7. Deve existir uma autoclave num local conveniente para o alojamento, onde se encontra o risco biológico. Resíduos infecciosos devem ser processados pela autoclave, antes de passarem para outras zonas das instalações.
8. Deve existir igualmente um incinerador in loco ou encontrar uma solução alternativa com as autoridades competentes.
9. As caixas/gaiolas de animais infectados com microrganismos do Grupo de Risco 3 devem ser colocadas em isoladores ou salas com exaustores atrás das caixas/gaiolas.
10. Os forros devem libertar o menor pó possível.
11. Toda a roupa de protecção tem de ser descontaminada antes de ser lavada.
12. As janelas devem estar fechadas e seladas e ser inquebráveis.
13. A vacinação do pessoal deve ser assegurada, sempre que necessário.

Instalação para animais – Nível 4 de segurança biológica

As actividades nesta unidade estão normalmente ligadas às do laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica e as regras e regulamentos nacionais e locais têm de ser harmonizados para se aplicarem a ambas instalações. Se as actividades tiverem de ser realizadas num laboratório de trabalhos com fatos pressurizados, devem respeitar-se práticas e procedimentos adicionais aos aqui descritos (ver Capítulo 5).

1. É necessário observar todos os requisitos estabelecidos para os Níveis 1, 2, e 3 de segurança biológica.
2. O acesso tem de ser rigorosamente controlado; só o pessoal designado pelo director do laboratório tem autorização de entrar.
3. Nenhum membro do pessoal pode trabalhar sozinho; a regra das duas pessoas aplica-se.
4. O pessoal deve ter recebido o nível mais elevado de formação em microbiologia e estar familiarizado com os perigos inerentes ao seu trabalho e as precauções necessárias.
5. Nas zonas de alojamento dos animais infectados com os agentes do Grupo de Risco 4 têm de observar-se os critérios de confinamento descritos e aplicados nos laboratórios de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica.
6. A entrada para a instalação faz-se através de uma antecâmara de vácuo, com um vestiário e chuveiros separando a área limpa da área restrita.

7. O pessoal tem de tirar a sua própria roupa e vestir roupa especial de protecção. Quando terminar, tem de retirar a roupa de protecção para descontaminação numa autoclave e tomar um duche antes de sair.
8. A instalação deve possuir um sistema de ventilação com filtro HEPA, concebido de forma a assegurar uma pressão negativa (fluxo de ar dirigido para dentro).
9. O sistema de ventilação deve ser concebido de forma a evitar o retrofluxo e a pressurização positiva.
10. É igualmente necessário uma autoclave de duas portas, com a parte não contaminada num quarto fora das salas de confinamento, para a troca de material.
11. Deve igualmente existir uma passagem (câmara) de vácuo, com a parte não contaminada num quarto fora das salas de confinamento, para a troca de material que não se pode descontaminar em autoclave.
12. Todo o manuseamento de animais infectados com agentes do grupo de Risco 4 deve processar-se em condições de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica.
13. Todos os animais devem estar alojados em isoladores.
14. Todos os forros dos alojamentos e resíduos dos animais têm de ser processados em autoclave, antes de ser retirados das instalações.
15. O pessoal deve estar sob vigilância médica.

Invertebrados

Tal como no caso dos vertebrados, o nível de segurança biológica da instalação para animais é determinado pelos grupos de risco dos agentes sob investigação, ou quando indicado por uma avaliação dos riscos. As seguintes precauções suplementares são necessárias com determinados artrópodes, particularmente com insectos voadores:

1. Devem prever-se salas separadas para os invertebrados infectados e para os não infectados.
2. As salas devem poder ser seladas para fumigação.
3. Pulverizadores–insecticidas devem estar disponíveis no local.
4. Devem estar disponíveis meios de « arrefecimento » para reduzir, quando for necessário, a actividade dos invertebrados.
5. O acesso às instalações deve efectuar-se através de uma antecâmara com armadilhas para insectos e redes contra os artrópodes nas portas.
6. Todas as saídas de ventilação (exaustores) e janelas de abrir devem estar equipadas com redes contra os artrópodes.
7. Os ralos para resíduos nas pias e esgotos nunca devem ficar secos.
8. Todos os resíduos devem ser descontaminados em autoclaves dado que alguns invertebrados não morrem com desinfectantes.
9. Deve controlar-se os números de formas larvares e adultas de artrópodes voadores, rastejantes e saltitantes.

10. Os receptáculos de carraças e ácaros devem permanecer em bandejas de óleo.
11. Os insectos voadores infectados ou potencialmente infectados devem ser guardados em gaiolas de rede dupla.
12. Os artrópodes infectados ou potencialmente infectados devem ser manuseados em câmaras de segurança biológica ou caixas isoladoras.
13. Os artrópodes infectados ou potencialmente infectados podem ser manipulados em bandejas de arrefecimento.

Para mais informações ver referências (*3–6*).

7. Directivas para a fiscalização da construção de instalações laboratoriais

A fiscalização da construção das instalações pode definir-se como o processo sistemático de análise e documentação assegurando que determinados componentes estruturais, sistemas ou componentes de sistemas foram instalados, inspeccionados, testados operacionalmente e verificados como conformes às normas nacionais e internacionais apropriadas. Os critérios e funções de concepção do respectivo sistema de construção estabelecem esses requisitos. Por outras palavras, os laboratórios do Nível 1 a 4 de segurança biológica têm requisitos de licenciamento diferentes e cada vez mais complexos. As condições geográficas e climáticas, tais como as falhas geológicas e o calor, frio ou humidade extremos, também podem afectar a concepção do laboratório e os requisitos de fiscalização. Após a conclusão do processo de fiscalização, os componentes estruturais e sistemas de apoio pertinentes têm sido sujeitos às diversas condições de funcionamento e falhas eventuais que se possam normalmente prever e têm sido aprovados.

O processo de fiscalização e os critérios de aceitação devem ser estabelecidos na fase inicial, de preferência durante a fase de programação do projecto de construção ou renovação. Ao entrar em contacto com o processo de fiscalização na fase inicial do projecto, os arquitectos, engenheiros, pessoal de segurança e de saúde e os próprios donos dos laboratórios compreendem as capacidades do referido laboratório e estabelecem expectativas uniformes para a performance do laboratório e/ou instalação. O processo de fiscalização dá à instituição e à comunidade vizinha uma maior confiança que os sistemas estruturais, eléctricos, mecânicos, de canalização, de confinamento e descontaminação, de segurança e alarme funcionam conforme previsto, assegurando o confinamento de qualquer microrganismo potencialmente perigoso com que se esteja a trabalhar num determinado laboratório ou instalação para animais.

As actividades de fiscalização começam geralmente durante a fase de programação do projecto e prosseguem durante a construção e período de garantia subsequente do laboratório ou instalação. O período de garantia dura geralmente um ano após a ocupação dos locais. Aconselha-se que o fiscal escolhido seja independente dos arquitectos, engenheiros e construtores envolvidos na concepção e construção da obra. O fiscal serve de « advogado » da instituição que constrói ou renova o laboratório e deve ser considerado como um membro da equipa de concepção; a participação do fiscal na fase de programação inicial do projecto é essencial. Nalguns casos, a instituição pode

actuar como o seu próprio fiscal. No caso de instalações laboratoriais mais complexas (Níveis 3 e 4 de segurança biológica) a instituição deve escolher um fiscal externo com experiência e êxito comprovado na fiscalização de laboratórios complexos de segurança biológica e instalações para animais. Mesmo nos casos em que se utiliza um fiscal independente, a instituição deve sempre ser membro da equipa de fiscalização; aconselha-se que além do fiscal, o Responsável da Segurança, o Responsável do Projecto, o Director do Programa e um representante do pessoal de Operações e Manutenção façam parte da equipa.

A seguir se encontra uma lista de sistemas e componentes laboratoriais que podem ser incluídos num plano de fiscalização para testes funcionais, segundo o nível de confinamento da instalação a renovar ou construir. A lista não é exaustiva. É evidente que o plano de fiscalização reflectirá a complexidade do laboratório a planear.

1. Construir sistemas de automação incluindo ligações a postos remotos de monitorização e controlo
2. Sistemas de vigilância e detecção electrónicos
3. Fechaduras de segurança e leitores de proximidade electrónicos
4. Sistemas de aquecimento, ventilação (adução e exaustão) e ar condicionado
5. Sistemas de filtragem de ar particulado de alta eficiência (HEPA)
6. Sistemas de descontaminação HEPA
7. Controlo sistemas HVAC, exaustor e sincronismos
8. Amortecedores isoladores herméticos
9. Sistemas de refrigeração de laboratórios
10. Caldeiras e sistemas a vapor
11. Sistemas de detecção, alarme e extinção de incêndios
12. Dispositivos de prevenção do refluxo das águas domésticas
13. Sistemas de tratamento da água (osmose de reversão, água destilada)
14. Sistemas de tratamento e neutralização de efluentes líquidos
15. Sistemas elementares de drenagem de esgotos
16. Sistemas de descontaminantes químicos
17. Sistemas de gás para laboratórios médicos
18. Sistemas de ar para respiração
19. Sistemas de ar para serviços e instrumentos
20. Verificação diferencial de pressão em cascada nos laboratórios e áreas de apoio
21. Rede da área local (LAN) e sistemas de dados informáticos
22. Sistemas normais de energia (rede de electricidade)
23. Sistemas eléctricos de emergência
24. Sistemas eléctricos ininterruptíveis
25. Sistemas luzes de emergência
26. Vedantes para fixações eléctricas
27. Vedantes para perfurações eléctricas e mecânicas
28. Sistemas telefónicos

29. Sincronizadores de controlo das portas de passagens de vácuo
30. Vedantes de portas herméticas
31. Vedantes de janelas e de painéis de observação
32. Protecção contra perfurações do revestimento
33. Verificação da integridade das estruturas (pavimentos, paredes e tectos)
34. Verificação do revestimento de protecção (pavimentos, paredes e tectos)
35. O confinamento a Nível 4 de segurança biológica engloba pressurização e isolação
36. Câmaras de segurança biológica
37. Autoclaves
38. Sistema de nitrogénio líquido e alarmes
39. Sistemas de detecção de água (no caso de inundações dentro da zona de confinamento)
40. Sistemas de chuveiros de descontaminação e aditivos químicos
41. Sistemas de lavagem e neutralização de gaiolas/jaulas
42. Tratamento de resíduos.

8. Directivas para a certificação de instalações laboratoriais

Os laboratórios são meios complexos e dinâmicos. Hoje em dia, os laboratórios clínicos e de investigação biomédica têm de adaptar-se rapidamente às necessidades e pressões sempre crescentes de saúde pública. Um exemplo disto é a necessidade dos laboratórios ajustarem as suas prioridades, para enfrentar os desafios das doenças infecciosas emergentes ou re-emergentes. A fim de assegurar que a adaptação e manutenção se processa prontamente e de forma segura e apropriada, todos os laboratórios clínicos e de investigação biológica devem ser certificados regularmente. A certificação de um laboratório ajuda a assegurar que:

1. Estão a ser utilizados controlos técnicos apropriados e estão a funcionar adequadamente, conforme previsto
2. Existem controlos administrativos apropriados in loco e previstos nos protocolos
3. O equipamento de protecção pessoal é apropriado às tarefas realizadas
4. A descontaminação dos resíduos e do material foi resolvida de forma adequada e existem procedimentos apropriados para o tratamento dos resíduos
5. Existem procedimentos adequados para a segurança geral do laboratório, incluindo a segurança física, eléctrica e química.

A certificação dos laboratórios é diferente das actividades de fiscalização (Capítulo 7) em diversos pontos importantes. A certificação de um laboratório é a análise sistemática de todas as características e procedimentos de segurança, dentro do laboratório (controlos técnicos, equipamentos de protecção pessoal e controlos administrativos). As práticas e procedimentos de segurança biológica são igualmente examinados. A certificação dos laboratórios é uma actividade contínua de controlo da qualidade e da segurança, que deve decorrer regularmente.

Os profissionais de segurança e saúde ou de segurança biológica, devidamente formados, podem efectuar actividades de certificação de laboratórios. As instituições podem utilizar pessoal que tenha o conjunto de aptidões necessárias para efectuar as fiscalizações, vistorias ou inspecções (termos sinónimos) ligadas ao processo de certificação. Contudo, podem decidir ou ser estimuladas a recrutar terceiros para essas funções.

As instalações laboratoriais clínicas e de investigação biomédica podem criar instrumentos de fiscalização, vistoria ou inspecção, a fim de assegurar consistência no processo de certificação. Tais instrumentos devem ser suficientemente flexíveis para

abranger as diferenças físicas e de procedimento entre os laboratórios, que exige o tipo de trabalho a efectuar, permitindo simultaneamente uma abordagem consistente dentro da instituição. Deve, porém, ter-se o cuidado de assegurar que os referidos instrumentos são apenas utilizados por pessoal devidamente formado e que não são utilizados como substitutos de uma boa avaliação profissional da segurança biológica. Nos Quadros 5 a 7 dão-se exemplos desses instrumentos.

Os resultados da fiscalização, vistoria ou inspecção devem ser debatidos com o pessoal e a direcção do laboratório. Dentro do laboratório, deve identificar-se e responsabilizar-se uma pessoa para assegurar que são tomadas as medidas de correcção das deficiências identificadas durante o processo de fiscalização. A certificação do laboratório não estará completa e o laboratório não será declarado funcional, até que as referidas deficiências tenham sido devidamente corrigidas.

A complexidade das operações laboratoriais do Nível 4 de segurança biológica ultrapassa o âmbito deste manual. Para mais informações e detalhes, queira contactar o programa de Segurança Biológica da OMS[1] (ver Anexo 3).

---

[1] WHO Biosafety programme, Department of Communicable Disease Surveillance and Response, World Health Organization, 20 Avnue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland (htp://www.who.int/csr/).

Quadro 5. ***Laboratório de base – Nível 1 de segurança biológica: Vistoria da segurança em laboratório***

Localização . . . . Data . . . .

Responsável do laboratório . . . .

ITEM VISTORIADO (DATA DA VISTORIA)	SIM	NÃO	N/A	COMENTÁRIOS
Laboratório				
Sinalização própria: Luz ultravioleta, laser, material radioactivo, etc.	☐	☐	☐	Nível de segurança biológica:
Directivas de segurança biológica apropriadas, disponíveis e aplicadas	☐	☐	☐	Anexar formulário apropriado
Equipamento laboratorial devidamente etiquetado (risco biológico, radioactivo, tóxico, etc.)	☐	☐	☐	Vistoria do Nível de Segurança Biológica
Concepção do laboratório				
Concebido para limpeza fácil	☐	☐	☐	
Luzes ultravioletas com comutador interligado	☐	☐	☐	
Todas as prateleiras fixas	☐	☐	☐	
Tampos das bancadas impermeáveis e resistentes a ácidos, álcalis, solventes orgânicos e ao calor	☐	☐	☐	
Iluminação apropriada	☐	☐	☐	
Espaço de armazenagem adequado e bem utilizado	☐	☐	☐	
Cilindros de gás				
Todos os cilindros fixos	☐	☐	☐	
Cilindros de reserva com tampas	☐	☐	☐	
Gases asfixiantes e perigosos só em salas ventiladas	☐	☐	☐	
Cilindros de reserva ou vazios in loco	☐	☐	☐	
Produtos químicos				
Inflamáveis armazenados em armários apropriados	☐	☐	☐	
Geradores de peróxidos (com data de recepção e data de abertura)	☐	☐	☐	
Produtos químicos bem separados	☐	☐	☐	
Produtos químicos perigosos armazenados acima do nível dos olhos	☐	☐	☐	
Produtos químicos armazenados no chão	☐	☐	☐	
Recipientes de produtos químicos não fechados	☐	☐	☐	
Todas as soluções devidamente etiquetadas	☐	☐	☐	
Termómetros de mercúrio em utilização	☐	☐	☐	
Frigoríficos/congeladores/câmaras frigoríficas				
Presença de alimentos para consumo humano	☐	☐	☐	
Inflamáveis em contentores antiexplosivos	☐	☐	☐	
Avisos nas portas caso contenham substâncias cancerígenas, radioactividade e/ou riscos biológicos	☐	☐	☐	
Câmara frigorífica dispõe de disparo de emergência	☐	☐	☐	

ITEM VISTORIADO (DATA DA VISTORIA)	SIM	NÃO	N/A	COMENTÁRIOS
Equipamento eléctrico				
Existem extensões	☐	☐	☐	
Tomadas com ligação à terra e polaridade adequada	☐	☐	☐	
Conexões perto de pias, debaixo de chuveiros, etc.	☐	☐	☐	
Equipamento com cabos esfiados ou danificados	☐	☐	☐	
Tomadas ou ligações eléctricas sobrecarregadas	☐	☐	☐	
Ligações eléctricas instaladas no pavimento	☐	☐	☐	
Fusíveis adequados nas caixas-condutas	☐	☐	☐	
Tomadas eléctricas perto de fontes de água estão conformes as normas locais	☐	☐	☐	
Cabos eléctricos possuem ligação à terra	☐	☐	☐	
Aquecedores portáteis	☐	☐	☐	
Equipamento de protecção pessoal				
Solução para lavar os olhos	☐	☐	☐	
Chuveiros de segurança	☐	☐	☐	
Equipamento de protecção pessoal (luvas, batas, óculos, etc.)	☐	☐	☐	
Pessoal devidamente equipado	☐	☐	☐	
Batas, capas, aventais, luvas e outro material de protecção não utilizado fora do laboratório	☐	☐	☐	
Equipamento de protecção pessoal disponível para armazenagem criogénica	☐	☐	☐	
Tratamento de resíduos				
Provas de eliminação inadequada dos resíduos	☐	☐	☐	
Resíduos separados em contentores apropriados	☐	☐	☐	
Contentores de resíduos químicos etiquetados, datados e selados	☐	☐	☐	
Contentores de resíduos químicos devidamente acondicionados e armazenados	☐	☐	☐	
Recipientes de objectos cortantes devidamente utilizados e eliminados	☐	☐	☐	
Nenhum lixo no chão	☐	☐	☐	
Normas para a eliminação dos resíduos afixadas no laboratório	☐	☐	☐	
Programas de saúde ocupacional e de segurança existentes				
Comunicação de riscos	☐	☐	☐	
Protecção respiratória	☐	☐	☐	
Protecção auditiva	☐	☐	☐	
Monitorização do formaldeído	☐	☐	☐	
Monitorização do óxido de etileno	☐	☐	☐	
Monitorização do gás anestésico	☐	☐	☐	

ITEM VISTORIADO (DATA DA VISTORIA)	SIM	NÃO	N/A	COMENTÁRIOS
Controlos técnicos gerais				
Fluxo de ar do laboratório negativo, para instalações gerais, corredores e escritórios	☐	☐	☐	
Pias e drenos servem de respiradouros	☐	☐	☐	
Lavatórios disponíveis para lavar as mãos	☐	☐	☐	
Partes de máquinas expostas (polias, engrenagens)	☐	☐	☐	
Circuito de vácuo tem filtros e sifões nas bancadas do laboratório	☐	☐	☐	
Riscos de refluxo no abastecimento de água	☐	☐	☐	
Sistemas de água destilada em boas condições	☐	☐	☐	
Programa de controlo de artrópodes e roedores activo e eficaz	☐	☐	☐	
Práticas e procedimentos gerais				
Comida para consumo humano armazenada fora do laboratório	☐	☐	☐	
Fornos microondas com avisos bem visíveis: « Não preparar comida – Só para uso do laboratório »	☐	☐	☐	
Comer, beber, fumar e/ou maquilhar-se no laboratório	☐	☐	☐	
Recipientes de vidro pressurizados protegidos (por exemplo, câmaras de vácuo)	☐	☐	☐	
Pipetar com a boca proibido	☐	☐	☐	
Meios mecânicos de pipetar disponíveis e utilizados.	☐	☐	☐	
Roupa de protecção do laboratório guardada separadamente da roupa pessoal.	☐	☐	☐	
Manutenção geral do laboratório				
Frascos arrumados no chão.	☐	☐	☐	
Riscos evidentes de tropeçar.	☐	☐	☐	
Panos absorventes limpos nas superfícies de trabalho	☐	☐	☐	
Estilhaços de vidro manuseados com meios mecânicos (escovas, aparadores lixo, pinças, etc.)	☐	☐	☐	
Protecção contra incendios				
Cabeças de extintores livres e não obstruídas	☐	☐	☐	
Perfurações nas paredes, tectos, pavimentos, etc.	☐	☐	☐	
Cablagem ou tubagem pelas aberturas das portas	☐	☐	☐	
Largura de passagem mínima de 1m no laboratório	☐	☐	☐	
Armazenagem em cima de canalizações ou de montagens eléctricas	☐	☐	☐	
Restos de combustíveis armazenados no laboratório	☐	☐	☐	
Banheiras aquecidas a temperaturas constantes				
Equipadas com nível mínimo de água e válvula de sobreaquecimento.	☐	☐	☐	
Construídas com materiais não–inflamáveis	☐	☐	☐	

Assinatura do vistoriador. . . . . Data do termo da vistoria . . . .

Quadro 6. ***Laboratório de base – Nível 2 de segurança biológica: Vistoria da segurança em laboratório.***
Formulário a utilizar com o formulário de vistoria de segurança em laboratório do Nível 1 de segurança biológica.

Localização . . . . Data . . . .

Responsável do laboratório . . . .

ITEM VISTORIADO (DATA DA VISTORIA)	SIM	NÃO	N/A	COMENTÁRIOS
Câmara de segurança biológica (CSB)				
Certificação no ano anterior	☐	☐	☐	Data:
Superfície da CSB limpa com desinfectante apropriado no início e no final de cada procedimento	☐	☐	☐	Local:
Grelha frontal e filtro exaustor não obstruídos	☐	☐	☐	
Chamas vivas utilizadas dentro da câmara	☐	☐	☐	Modelo:
Circuitos de vácuo dispondo de filtros em série e sifões desinfectantes	☐	☐	☐	Tipo:
CSB comprometida pelo ar da sala ou localização	☐	☐	☐	
CSB utilizada quando há risco de formação de aerossóis	☐	☐	☐	N° Série:
Laboratório				
Acesso limitado e restrito ao pessoal autorizado	☐	☐	☐	
Entrada limitada ao pessoal avisado de todos os perigos potenciais	☐	☐	☐	
Sinal de risco biológico afixado na porta do laboratório, sempre que tal for o caso	☐	☐	☐	
— Sinal com informações exactas e actuais	☐	☐	☐	
— Sinal legível e em bom estado.	☐	☐	☐	
Todas as portas fechadas.	☐	☐	☐	
Descontaminação				
Descontaminante específico ao organismo utilizado	☐	☐	☐	
Todos derrames e acidentes com materiais infecciosos notificados ao supervisor do laboratório.	☐	☐	☐	
Descontaminante apropriado utilizado para limpeza de derrames	☐	☐	☐	
Superfícies de trabalho descontaminadas antes e depois de cada procedimento, diariamente e após derrames.	☐	☐	☐	
Manuseamento de resíduos contaminados				
Utilização correcta de recipientes de resíduos infecciosos	☐	☐	☐	
Recipientes não cheios demais	☐	☐	☐	
Recipientes devidamente etiquetados e fechados	☐	☐	☐	
Stocks de culturas e outros resíduos regulamentados devidamente descontaminados antes de eliminados	☐	☐	☐	

ITEM VISTORIADO (DATA DA VISTORIA)	SIM	NÃO	N/A	COMENTÁRIOS
Materiais descontaminados fora do laboratório transportados em contentores fechados, resistentes, estanques, em conformidade com regras e regulamentos locais	☐	☐	☐	
Resíduos diversos biologicamente descontaminados, antes de eliminação como resíduos químicos ou radiológicos	☐	☐	☐	
Protecção pessoal				
Pessoal de laboratório alertado para vacinação/testes apropriados contra agentes manuseados	☐	☐	☐	
Apelo a serviços médicos apropriados para exames, vigilância e tratamento em caso de exposição profissional	☐	☐	☐	
Utilização de luvas ao manusear material infeccioso ou equipamento contaminado	☐	☐	☐	
Protecção da cara ao trabalhar fora da CSB com material infeccioso	☐	☐	☐	
Lavagem das mãos depois de tirar as luvas, depois de trabalhar com agentes infecciosos e antes de sair do laboratório	☐	☐	☐	
Agente antimicrobiano disponível para primeiros socorros imediatos	☐	☐	☐	
Práticas				
Utilizar CSB sempre que existir potencial para produção de aerossóis/salpicos infecciosos	☐	☐	☐	
Manual de segurança biológica preparado e adoptado	☐	☐	☐	
O pessoal lê, estuda e segue as instruções sobre práticas e procedimentos, incluindo o manual de segurança ou de operações (todo o pessoal, anualmente)	☐	☐	☐	
As manipulações são realizadas de forma a minimizar aerossóis/salpicos	☐	☐	☐	
Com agentes infecciosos, utilizar seringas de agulha fixa/seringas-agulhas descartáveis	☐	☐	☐	
Recipientes e rotores de centrifugadora só devem ser abertos numa CSB	☐	☐	☐	
O transporte de espécimes infecciosos fora de CSB deve ser feito em contentores aprovados, segundo os regulamentos de transporte aprovados	☐	☐	☐	
Instalações				
Lavatório para lavar mãos instalado perto da saída do laboratório.	☐	☐	☐	

Assinatura do vistoriador. . . . . Data do termo da vistoria . . . .

Quadro 7. ***Laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica: Vistoria da segurança em laboratório.***

Formulário a utilizar com os formulários de vistoria de segurança em laboratório dos Níveis 1 e 2 de segurança biológica.

Localização .... Data ....

Responsável do laboratório ....

ITEM VISTORIADO (DATA DA VISTORIA)	SIM	NÃO	N/A	COMENTÁRIOS
Instalações				
Laboratório separado de áreas de passagem livre no edifício	☐	☐	☐	
Acesso ao laboratório através de antecâmara com portas que fecham automaticamente	☐	☐	☐	
Todas as entradas do laboratório são ou podem ser seladas para descontaminação	☐	☐	☐	
O ar expelido da sala de passagem única é enviado para longe das áreas ocupadas	☐	☐	☐	
Sistema de ventilação controlado para monitorizar o sentido da circulação do ar	☐	☐	☐	
Protecção pessoal				
Batas fechadas à frente a utilizar no laboratório	☐	☐	☐	
Roupa de protecção a utilizar unicamente em locais do laboratório	☐	☐	☐	
Lavatório para lavar as mãos controlado por pedal, cotovelo ou automático	☐	☐	☐	
Protecção das mãos				
Utilizar luvas duplas ao manusear material infeccioso e equipamento e superfícies de trabalho potencialmente contaminados	☐	☐	☐	
Protecção respiratória				
Todo o pessoal deve utilizar protecção respiratória no laboratório, quando os aerossóis não forem contidos de forma segura numa CSB	☐	☐	☐	
Práticas				
Proteger as membranas mucosas ao trabalhar com material infeccioso fora de uma CSB	☐	☐	☐	
Alertar o pessoal para perigos especiais ligados ao(s) agentes(s)	☐	☐	☐	
Aconselhar o pessoal a ler, estudar e seguir as instruções sobre práticas e procedimentos, incluindo o manual de segurança biológica ou de operações	☐	☐	☐	
Fornecer ao pessoal actualizações anuais e formação adicional sobre alterações aos procedimentos	☐	☐	☐	
Desinfectar em autoclave todos os resíduos contaminados antes de os eliminar	☐	☐	☐	

Assinatura do vistoriador. . . . . Data de termo da vistoria . . . .

PARTE II

Directivas de protecção biológica

9. Conceitos de protecção biológica em laboratório

O Manual de Segurança Biológica em Laboratório tem-se centrado no passado em directivas tradicionais sobre segurança biológica em laboratórios. Sublinha a utilização de boas práticas microbiológicas e de equipamentos de confinamento apropriados; a concepção, funcionamento e manutenção adequadas das instalações, bem como as observações administrativas para minimizar o risco de ferimentos e doenças entre os membros do pessoal. Ao seguir estas recomendações, minimiza-se obviamente os riscos para o ambiente e a comunidade vizinha em geral. Agora tornou-se necessário alargar esta abordagem tradicional da segurança biológica através da introdução de medidas de protecção biológica em laboratório. Os eventos mundiais dos últimos tempos têm vindo a sublinhar a necessidade de proteger os laboratórios e os materiais neles contidos de exposição intencional a uma situação capaz de causar danos à população, aos animais, à agricultura e/ou ao ambiente. Contudo, antes de definir as necessidades de protecção biológica em laboratório de uma instalação, é importante compreender a diferença entre « segurança biológica » e « protecção biológica ».

« Segurança biológica » é o termo utilizado para descrever os princípios de confinamento, as tecnologias e as práticas que são implementadas para evitar a exposição não intencional a agentes patogénicos e toxinas, ou o seu escape acidental. « Protecção biológica » em laboratório refere-se a medidas de protecção estabelecidas e pessoais concebidas para evitar perda, roubo, utilização indevida, desvio ou escape intencional de agentes patogénicos e toxinas.

Prácticas eficazes de segurança biológica são a verdadeira base de actividades de protecção biológica. Através de avaliações de risco efectuadas como parte integrante do programa de segurança biológica de uma instituição, recolhe-se informação sobre o tipo de organismos disponíveis, sua localização física, o pessoal com necessidade de acesso a tais organismos, e identificação das pessoas por eles responsáveis. Esta informação pode ser utilizada para avaliar se uma instituição dispõe de material biológico aliciante para quem desejar utilizá-lo indevidamente. Devem elaborar-se normas nacionais reconhecendo e assumindo a responsabilidade constante dos países e instituições pela protecção de espécimes, agentes patogénicos e toxinas contra utilização abusiva.

Para cada serviço, é preciso preparar e implementar um programa específico sobre protecção biológica em laboratório, segundo as exigências do serviço, o tipo de trabalho realizado, e as condições locais. Em consequência, as actividades de protecção

biológica em laboratório devem ser representativas das várias necessidades da instituição e devem incluir dados de directores científicos, investigadores principais, responsáveis de segurança biológica, pessoal científico do laboratório, pessoal de manutenção, administradores, pessoal de tecnologia de informação e, quando apropriado, agências e pessoal de segurança.

As medidas de protecção biológica em laboratório devem basear-se num programa integral de responsabilidade por agentes patogénicos e toxinas, incluindo um inventário actualizado com localização da armazenagem, identificação do pessoal com acesso, descrição da utilização, documentação de transferências internas e externas dentro e entre serviços, e qualquer desactivação e/ou eliminação de materiais. Da mesma maneira, deve estabelecer-se um protocolo sobre protecção biológica em laboratório para identificação, notificação, investigação e reparação de infracções à protecção biológica em laboratório, incluindo desacordos em resultados de inventário. No caso de infracção à protecção, a participação e os papéis e responsabilidades das autoridades de saúde e de protecção pública devem ser claramente definidos.

A formação em protecção biológica em laboratório, distinta da formação em segurança biológica em laboratório, deve ser administrada a todo o pessoal. Esta formação deve ajudar o pessoal a compreender a necessidade de protecção de tais materiais e o fundamento lógico de medidas de protecção biológica específicas, e deve incluir um estudo de normas nacionais pertinentes e de procedimentos específicos à instituição. Durante a formação também se deve tomar conhecimento do papel e responsabilidades do pessoal no caso de uma infracção à protecção.

A aptidão profissional e ética de todo o pessoal com acesso regular autorizado a materiais sensíveis para trabalhar com agentes patogénicos perigosos está também no centro de actividades eficazes de protecção biológica em laboratório.

Em resumo, as precauções de segurança devem fazer parte do trabalho de rotina de laboratório, tal como as técnicas de assepsia e as práticas microbiológicas seguras. As medidas de protecção biológica em laboratório não devem entravar a troca eficiente de materiais de referência, espécimes clínicos e epidemiológicos e informação relacionada necessária para investigações clínicas ou de saúde pública. A gestão competente da protecção não deve interferir indevidamente nas actividades diárias dos cientistas, nem ser um impedimento à investigação. O acesso legítimo a materiais clínicos e de investigação importantes tem de ser preservado. A avaliação da aptidão do pessoal, a formação centrada na protecção e a observância rigorosa dos procedimentos de protecção dos agentes patogénicos são meios razoáveis de reforço da protecção biológica em laboratório. Todos estes esforços devem ser estabelecidos e mantidos por meio de avaliações regulares de risco e de ameaça, e revisão e actualização regulares dos procedimentos. A verificação da conformidade com tais processos, com instruções claras sobre papéis, responsabilidades e acções de solução, deve ser uma parte integrante de programas de protecção biológica em laboratório e de normas nacionais para protecção biológica de laboratórios.

Parte III

Equipamento de laboratório

10. Câmaras de segurança biológica

As câmaras de segurança biológica (CSB) foram concebidas para proteger o operador, o ambiente laboratorial e o material de trabalho da exposição a aerossóis e salpicos resultantes do manuseamento de materiais que contêm agentes infecciosos, tais como culturas primárias, stocks e amostras para diagnóstico. Qualquer actividade que liberta energia num líquido ou semilíquido, tal como agitar, verter, misturar ou deitar um líquido numa superfície ou noutro líquido, produz partículas de aerossol. Outras actividades laboratoriais, como semear às riscas uma placa de gelose, inocular culturas de células em frascos com pipetas, utilizar uma pipeta com vários canais para injectar suspensões líquidas de agentes infecciosos em placas de microculturas, homogeneizar e turbilhonar material infeccioso, centrifugar líquidos infecciosos ou trabalhar com animais, podem gerar aerossóis infecciosos. Partículas de aerossóis inferiores a 5 μm de diâmetro e gotículas entre 5 e 100 μm de diâmetro não são visíveis a olho nu. O pessoal de laboratório nem sempre se apercebe que estas partículas estão a ser geradas e podem ser inaladas ou contaminar materiais na superfície de trabalho. As CSB, quando devidamente utilizadas, têm-se revelado altamente eficazes na redução de infecções adquiridas em laboratório e contaminações cruzadas de culturas, devido a exposição a aerossóis. As CSB também protegem o ambiente.

Entretanto, a concepção básica das CSB sofreu diversas alterações. A principal foi a adição de um filtro de ar particulado de alta eficiência (HEPA) ao sistema de exaustão. O filtro HEPA retém 99.97% das partículas de 0.3 μm de diâmetro e 99.99% das partículas maiores ou mais pequenas. Isto permite que o filtro HEPA retenha efectivamente todos os agentes infecciosos conhecidos e que só ar isento de micróbios seja expelido da câmara. A segunda alteração foi dirigir o ar do filtro para a superfície de trabalho, protegendo assim os materiais que aí se encontram de contaminação. Esta característica é frequentemente designada de « protecção do produto ». Estes conceitos básicos levaram à criação de 3 tipos de CSB; no Quadro 8, a seguir, descreve-se o tipo de protecção que cada um deles fornece.

Nota. Câmaras horizontais e verticais de escoamento (« equipamentos de ar limpo ») **não são** câmaras de segurança biológica e não devem ser utilizadas como tal.

Câmara de segurança biológica – Classe I

A Ilustração 6, abaixo, apresenta um diagrama esquemático de uma CSB da Classe I. O ar da sala é aspirado através da abertura na frente, a uma velocidade mínima de

Quadro 8. ***Selecção de câmaras de segurança biológica (CSB), segundo o tipo de protecção necessária***

TIPO DE PROTECÇÃO	SELECÇÃO DE CSB
Protecção do pessoal, microrganismos nos Grupos de Risco 1–3	Classe I, II, III
Protecção do pessoal, microrganismos no Grupo de Risco 4, laboratório com porta-luvas	Classe III
Protecção do pessoal, microrganismos no Grupo de Risco 4, laboratório com fatos pressurizados	Classe I, II
Protecção do produto	Classe II ou III unicamente se fluxo laminar incluído
Protecção contra radionuclídios/químicos voláteis, quantidades mínimas	Classe IIB1, Classe IIA2 de evacuação exterior
Protecção contra radionuclídios/químicos voláteis	Classe I, IIB2 ou III

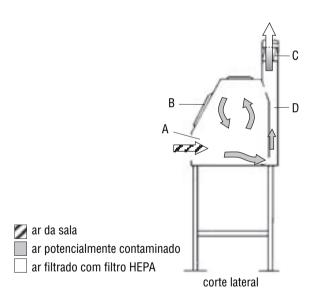



Ilustração 6. ***Diagrama esquemático de uma câmara de segurança biológica de Classe I***
A – Abertura frontal; B – Painel de observação; C – Filtro exaustor HEPA; D – Conduta do exaustor

0,38 m/s, passa por cima da superfície de trabalho e é expelido pelo canal de escape. O fluxo de ar varre as partículas de aerossol que possam gerar-se na superfície de trabalho para longe do operador e envia-as para o canal de escape. A abertura na frente permite igualmente que os braços do operador cheguem à superfície de trabalho dentro da câmara, enquanto este observa a operação através de um painel de vidro.

Este pode ser completamente levantado, permitindo o acesso à superfície de trabalho para a sua limpeza ou outros fins.

O ar da câmara é expelido através de um filtro HEPA: a) para o laboratório e depois para o exterior do edifício através do exaustor do mesmo; b) para o exterior através do exaustor do edifício; c) directamente para o exterior. O filtro HEPA pode estar colocado na conduta do exaustor do CSB ou no exaustor do edifício. Algumas CSB da Classe I estão equipadas com um exaustor de ventoinha, enquanto outras dependem da ventoinha do exaustor do edifício.

A CSB da Classe I foi a primeira CSB reconhecida e, devido à sua concepção simples, continua a ser amplamente utilizada no mundo inteiro. Tem a vantagem de fornecer protecção pessoal e ambiental e pode igualmente ser utilizada para trabalhar com radionuclídios e químicos tóxicos voláteis. Contudo, dado que o ar aspirado da sala e que varre a superfície de trabalho é não-esterilizado, considera-se que não assegura uma protecção do produto consistente e digna de confiança.

Câmaras de segurança biológica – Classe II

Dado o aumento da utilização de culturas de células e tecidos para a propagação de vírus e outros fins, considerou-se que já não era satisfatório varrer a superfície de trabalho com ar não-esterilizado. A CSB da Classe II foi concebida para fornecer protecção pessoal, mas também para proteger os materiais na superfície de trabalho do ar contaminado da sala. As CSB da Classe II, da qual existem 4 tipos (A1, A2, B1 e B2), distinguem-se das CSB da Classe I pelo facto de só permitirem o fluxo de ar esterilizado (filtro HEPA) sobre a superfície de trabalho. A CSB da Classe II pode ser utilizada para trabalhar com agentes infecciosos dos Grupos de Risco 2 e 3 e mesmo do Grupo de Risco 4 se forem utilizados fatos de pressão positiva.

Câmara de segurança biológica – Classe II, tipo A1

Na Ilustração 7, a seguir, apresenta-se um esquema desta câmara. Uma ventoinha interna suga ar da sala (abastecimento de ar) pela abertura na frente e envio-o para a câmara através da grelha de entrada. A velocidade de entrada deste ar deve ser, no mínimo, 0,38 m/s na abertura da frente. O ar passa então por um filtro HEPA de abastecimento, antes de ser injectado para a superfície de trabalho. À medida que o fluxo de ar desce, a cerca de 6–18 cm da superfície de trabalho, divide-se em duas correntes secundárias: metade do fluxo de ar passa através da grelha da frente do exaustor e a outra metade através da grelha de trás. Quaisquer partículas de aerossol geradas na superfície de trabalho são imediatamente capturadas neste fluxo de ar descendente e enviadas para as grelhas (posterior ou anterior) do exaustor, assegurando assim o mais elevado nível de protecção do produto. O ar é então expelido através da conduta traseira no espaço entre os filtros de abastecimento e do exaustor, localizados no topo da câmara. Devido ao tamanho destes filtros, cerca de 70% do ar é reenviado através do filtro HEPA de abastecimento para a zona de trabalho; os restantes 30% passam pelo filtro do exaustor para a sala ou para o exterior.

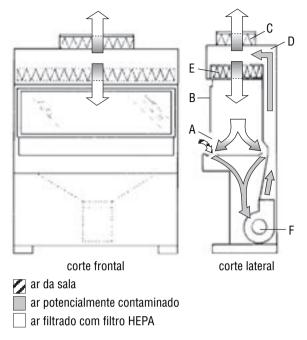



Ilustração 7. ***Diagrama esquemático de uma câmara de segurança biológica da Classe IIA1***
A – Abertura frontal; B – Painel de observação; C – Filtro exaustor HEPA; D – Conduta traseira; E – Filtro HEPA de abastecimento; F – Ventoinha

O ar do exaustor da CSB – Classe IIA1 pode ser reenviado para a sala ou expelido para o exterior do edifício através de uma conexão a uma conduta própria ou através do exaustor do edifício.

Recircular o ar usado para a sala tem a vantagem de fazer baixar os custos de combustível, porque não se está a expelir para o exterior ar aquecido e/ou arrefecido. Uma conexão a um sistema de ventilação por condutas também permite utilizar algumas CSB em trabalho com radionuclídios voláteis e químicos tóxicos voláteis (Quadro 8).

Câmaras de segurança biológica – Classe II tipo A2 com ventilação para o exterior, B1 e B2

As CSB – Classe IIA2 com ventilação para o exterior, Classe IIB1 (Ilustração 8) e Classe IIB2 são variantes da Classe II tipo A1. No Quadro 9, mostram-se as suas características, bem como as das CSB da Classe I e da Classe III. Cada variante permite utilizar as CSB para fins específicos (ver Quadro 8). Estas CSB distinguem-se umas das outras em diversos aspectos: a velocidade de entrada do ar pela abertura frontal; a quantidade de ar recirculado pela superfície de trabalho e expelido da câmara; o sistema de ventilação, que determina se o ar da câmara é expelido para a sala, para o exterior através de um sistema próprio, ou para o sistema de ventilação do edifício;

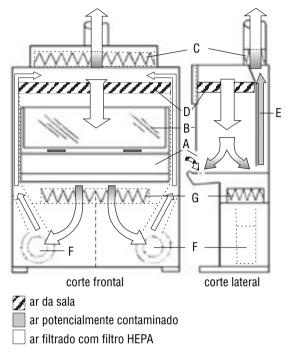



Ilustração 8. ***Diagrama esquemático de uma câmara de segurança biológica da Classe IIB1***
A – Abertura frontal; B – Painel de observação; C – Filtro exaustor HEPA; D – Filtro de admissão HEPA; E – Plenum do exaustor de pressão negativa; F – Ventoinha; G – Filtro HEPA de admissão de ar. É necessário ligar o exaustor da câmara ao sistema de ventilação do edifício

o sistema de pressão (se as câmaras dispõem de condutas e plenums biologicamente contaminados sob pressão negativa ou condutas e plenums biologicamente contaminados, rodeados por condutas e plenums de pressão negativa).

Descrições detalhadas das diversas CSB – Classe IIA e IIB podem ser extraídas das referências (*7*) e (*8*) e das brochuras dos fabricantes.

Câmara de segurança biológica – Classe III

Este tipo de câmara (Ilustração 9) fornece o nível mais elevado de protecção pessoal e é utilizado para os agentes do Grupo de Risco 4. Todas as perfurações são seladas « à prova de gás ». O ar fornecido é filtrado por HEPA e o ar expelido passa por 2 filtros HEPA. O fluxo de ar é mantido por um sistema de ventilação próprio, fora da câmara, que mantém o interior da mesma sob pressão negativa (cerca de 124,5 Pa). O acesso à superfície de trabalho requer luvas de borracha de grande resistência, colocadas à entrada da câmara. As CSB – Classe III devem possuir uma caixa de passagem anexa que possa ser esterilizada e equipada com um exaustor de filtro HEPA. As

Quadro 9. ***Diferenças entre as Câmaras de segurança biológica (CSB) das Classes I, II e III***

CSB	VELOCIDADE(m/s)	FLUXO DE AR (%)		SISTEMA DE EXAUSTÃO
		RECIRCULADO	EXPELIDO	
Classe I[a]	0,36	0	100	Conduta dura
Classe IIA1	0,38–0,51	70	30	Exaustão para sala ou conexão « dedal »
Classe IIA2 Ventilação para o exterior[a]	0,51	70	30	Exaustão para sala ou conexão « dedal »
Classe IIB1[a]	0,51	30	70	Conduta dura
Classe IIB2[a]	0,51	0	100	Conduta dura
Classe III[a]	NA	0	100	Conduta dura

NA Não aplicável.
[a] Todas as condutas biologicamente contaminadas estão sob pressão negativa ou rodeadas por condutas e plenums de pressão negativa.

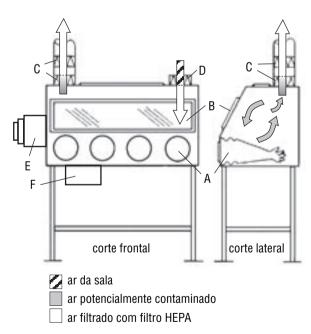



Ilustração 9. ***Diagrama esquemático de uma câmara de segurança biológica da Classe III (com porta-luvas)***
A – Porta-luvas (cobrindo o braço todo); B – Painel de observação; C – Filtros exaustores HEPA duplos; D – Filtros de admissão HEPA; E – Autoclave de duas portas ou caixa de passagem; F – Reservatório de desinfecção química. É necessário ligar o exaustor da câmara ao sistema de ventilação do edifício.

câmaras podem ser conectadas a uma autoclave de duas portas, apropriada para descontaminar todos os materiais que entram ou saem das câmaras. Podem juntar-se várias caixas de luvas para ampliar a superfície de trabalho. As CSB de Classe III são apropriadas para trabalhar em laboratórios dos Níveis 3 e 4 de segurança biológica.

Ligações de ar da câmara de segurança biológica

As ligações « de dedal » ou « de capuz » foram concebidas para utilizar em CSB de Classes IIA1 e IIA2 com ventilação para o exterior. O « dedal » encaixa na caixa do exaustor da câmara, aspirando o ar da câmara e expelindo-o para as condutas do exaustor do edifício. Entre o dedal e a caixa do exaustor da câmara mantém-se um pequeno orifício, geralmente de 2,5 cm de diâmetro, o que permite que o ar da sala seja também aspirado e expelido para o exaustor do edifício. A capacidade deste sistema tem de ser suficiente para captar o ar da sala e o ar do exaustor da câmara. O dedal deve poder ser removido ou ser concebido de forma a permitir testes operacionais da câmara. De um modo geral, o rendimento de uma CSB com ligação de dedal não é muito afectado por flutuações no fluxo de ar do edifício.

As CSB de Classe IIB1 e IIB2 têm condutas rígidas, solidamente ligadas sem qualquer abertura ao sistema de ventilação do edifício, ou, de preferência, a um sistema próprio de condutas. O sistema de ventilação do edifício tem de corresponder rigorosamente às necessidades de fluxo de ar especificadas pelo fabricante, tanto no que se refere ao volume como à pressão estática. A certificação de CSB de condutas rígidas demora mais tempo do que a de câmaras que recirculam o ar para a sala ou que têm ligação de dedal.

Escolha de uma câmara de segurança biológica

A escolha de uma CSB depende em primeiro lugar do tipo de protecção necessária: protecção do produto; protecção pessoal contra microrganismos dos Grupos de Risco 1 a 4; protecção pessoal contra exposição a radionuclídios e químicos tóxicos voláteis; ou uma combinação destes. No Quadro 8 são indicadas as CSB recomendadas para cada tipo de protecção.

Químicos tóxicos ou voláteis não devem ser utilizados em CSB que reenviam o ar usado para a sala: câmaras da Classe I, que não estão conectadas ao exaustor do edifício, ou da Classe IIA1 e IIA2. Câmaras da Classe IIB1 são aceitáveis para trabalhos com quantidades diminutas de químicos voláteis e radionuclídios. Quando estiver previsto trabalhar com quantidades significativas de radionuclídios e químicos voláteis, é necessário utilizar uma CSB da Classe IIB2, também conhecida por câmara de exaustor máximo.

Utilização de câmaras de segurança biológica em laboratório

Localização

A velocidade do fluxo de ar através da abertura frontal para dentro da câmara é de aproximadamente 0,45 m/s. A esta velocidade, a integridade do fluxo é frágil e pode

ser facilmente desintegrada por correntes de ar causadas por pessoas que passam perto da câmara, janelas abertas, registos do fornecimento de ar e pelo abrir e fechar de portas. A solução ideal seria instalar a CSB num local afastado da circulação das pessoas e de correntes de ar que a perturbem. Sempre que possível, deve prever-se um espaço livre de cerca de 30 cm nas traseiras e em cada lado da câmara, permitindo um acesso fácil para a manutenção do aparelho. Pode igualmente ser necessário um espaço livre de cerca de 30–35 cm acima da câmara, para a medição exacta da velocidade do ar através do filtro exaustor e para a mudança do filtro.

Operadores

Se as CSB não forem utilizadas de forma apropriada, a protecção que fornecem pode ficar muito reduzida. Os operadores das CSB têm de ser muito cuidadosos ao introduzir e retirar os seus braços da câmara, a fim de manter a integridade do fluxo de ar proveniente da abertura frontal. Deve-se introduzir e retirar os braços lentamente, na perpendicular da abertura frontal. O manuseamento dos materiais dentro da câmara só deve começar 1 minuto depois de introduzir as mãos e os braços na câmara, para que o ambiente no interior se estabilize e o fluxo de ar « varra » a superfície das mãos e dos braços do operador. É igualmente necessário minimizar os movimentos de entrada e saída da câmara, introduzindo previamente todos os materiais necessários, antes de iniciar a manipulação.

Colocação do material

A grelha frontal de entrada das CSB da Classe II não pode estar bloqueada com papel, equipamento ou outros artigos. A superfície do material a colocar dentro da câmara deve ser descontaminada com álcool a 70%. O trabalho pode ser efectuado sobre toalhas absorventes embebidas num desinfectante, a fim de capturar borrifos e salpicos. Todo o material deve ser colocado no fundo da câmara, perto da borda traseira da superfície de trabalho, sem bloquear a grelha traseira. O equipamento gerador de aerossóis (misturadores, centrifugadoras) deve ser colocado no fundo da câmara. Artigos volumosos, tais como sacos de protecção biológica, bandejas de pipetas descartáveis e frascos de sucções devem ser colocados numa das partes laterais do interior da câmara. O trabalho em si deve fluir ao longo da superfície de trabalho, da área limpa para a área contaminada.

O saco de segurança para recolha de material perigoso e a bandeja de pipetas que podem ser descontaminados em autoclave, não devem ser colocados no exterior da câmara. A frequência dos movimentos « para dentro e para fora » que implica a utilização destes recipientes iria perturbar a integridade da barreira de ar na câmara e comprometer tanto a protecção pessoal como a do produto manipulado.

Funcionamento e manutenção

A maior parte das CSB são concebidas para trabalhar 24 horas/dia, e os investigadores acham que o funcionamento contínuo ajuda a controlar os níveis de pó e partículas

no laboratório. As CSB – Classe IIA1 e IIA2 com exaustor para a sala ou conectadas a condutas exaustoras próprias, por ligações de dedal, podem ser desligadas quando não forem necessárias. Outros tipos de CSB, como as da Classe IIB1 e B2, que possuem instalações de condutas rígidas, precisam de manter um fluxo de ar ininterrupto, para ajudar a manter o equilíbrio do ar da sala. As câmaras devem ser ligadas, pelo menos 5 minutos antes do início das actividades, e permanecer ligadas 5 minutos após o termo das mesmas, a fim de « purgar » a câmara, isto é, dar tempo para que o ar contaminado seja expelido do ambiente interior da câmara.

Todas as reparações numa CSB devem ser efectuadas por um técnico qualificado. Qualquer defeito no funcionamento deve ser assinalado e reparado antes de voltar a utilizar a câmara.

Lâmpadas ultravioleta

Lâmpadas ultravioleta não são necessárias nas CSB. Se forem utilizadas, devem ser limpas todas as semanas, para retirar o pó e sujidade que podem bloquear a eficácia germicida dos raios. A intensidade destes deve ser verificada quando a câmara é recertificada, a fim de assegurar que a emissão de luz é apropriada. É necessário desligar as lâmpadas ultravioleta quando a sala está ocupada, para proteger os olhos e a pele de exposição descuidada.

Chamas vivas

Deve evitar-se chamas vivas no ambiente quase isento de micróbios, criado dentro da CSB; elas perturbam os padrões do fluxo de ar e podem ser perigosas quando se utilizam substâncias inflamáveis voláteis. Para esterilizar ansas bacteriológicas existem microqueimadores ou « fornos » eléctricos, que são preferíveis à chama viva.

Derrames

Deve estar afixada no laboratório uma cópia dos procedimentos necessários em caso de derrames; todo o pessoal do laboratório deve ler e compreender estes procedimentos. Se ocorrer um derrame de material perigoso dentro de uma CSB, deve começar-se imediatamente a limpeza da mesma, continuando a câmara a funcionar. Deve utilizar-se um desinfectante eficaz e aplicá-lo de forma a minimizar a produção de aerossóis. Todo o material que entrou em contacto com o produto derramado deve ser desinfectado e/ou esterilizado em autoclave.

Certificação

O funcionamento e a integridade operacional das CSB devem ser certificados conformes às normas nacionais e internacionais, aquando da instalação e depois periodicamente, por técnicos qualificados, de acordo com as instruções do fabricante. A avaliação da eficácia do confinamento das câmaras deve incluir testes sobre a integridade da câmara, fugas nos filtros HEPA, perfil de velocidade do fluxo de descida, velocidade aparente, pressão negativa/taxa de ventilação, modelo de fumo do fluxo de

ar, alarmes e interconexões. Pode igualmente fazer-se testes opcionais para fugas de electricidade, intensidade de iluminação, intensidade das luzes ultravioleta, nível de ruído e vibração. Para efectuar estes testes é necessário uma formação, aptidão e equipamento especiais, sendo por isso imprescindível que sejam feitos por um profissional qualificado.

Limpeza e desinfecção

Todos os artigos na CSB, incluindo o equipamento, devem ser descontaminados e retirados da câmara no final das operações, dado que os meios de cultura residuais podem permitir a proliferação de micróbios.

As superfícies internas das CSB devem ser descontaminadas antes e depois de cada utilização. As superfícies de trabalho e as paredes interiores devem ser esfregadas com um desinfectante que mate qualquer microrganismo que se encontre na câmara. No final do dia de trabalho, a descontaminação final da superfície deve incluir uma esfregadela geral da superfície de trabalho, das partes laterais e do fundo e do interior do vidro. Deve utilizar-se uma solução de hipoclorito de cálcio ou álcool a 70%, se eficaz para os organismos visados. É necessário esfregar uma segunda vez com água esterilizada, quando se utilizar um desinfectante corrosivo como o hipoclorito de cálcio.

É aconselhável que a câmara continue a funcionar durante a descontaminação. Caso tenha sido desligada, deve voltar a ser ligada e funcionar durante 5 minutos para purgar o ar interior, antes de ser desligada.

Descontaminação

As CSB precisam de ser descontaminadas antes de mudar filtros ou quando mudam de localização. O método de descontaminação mais comum é a fumigação com gás formaldeído. A descontaminação das câmaras deve ser efectuada por um profissional qualificado.

Equipamento de protecção pessoal

Deve utilizar-se este equipamento sempre que se utilizar uma CSB. Batas de laboratório são aceitáveis para os trabalhos realizados aos Níveis 1 e 2 de segurança biológica. Batas de fechar atrás, com frente sólida, fornecem uma melhor protecção e devem ser utilizadas nos Níveis 3 e 4 de segurança biológica (excepto nos laboratórios onde os fatos pressurizados são obrigatórios). As luvas devem cobrir os punhos da bata e não devem ficar debaixo das mangas. Podem utilizar-se mangas elásticas para proteger os pulsos do investigador. Para certos procedimentos podem ser necessárias máscaras e óculos de protecção.

Alarmes

As CSB podem ser equipadas com um ou dois tipos de alarme. Alarmes no painel de observação só existem nas câmaras com painel de correr; o alarme é accionado quando o operador não coloca o painel na posição apropriada; para corrigir esta situação,

basta voltar a colocar o painel na posição correcta. Alarmes no fluxo de ar indicam que há uma deficiência no fluxo normal de ar da câmara; isto significa que há um perigo imediato para o operador ou para o produto. Quando este alarme se activar, o trabalho deve ser imediatamente interrompido e o supervisor do laboratório deve ser informado. O manual de instruções do fabricante deve fornecer mais informações. A formação na utilização das CSB deve abranger este aspecto.

Informações suplementares

Escolher o tipo apropriado de CSB, instalá-la, utilizá-la correctamente e certificar o seu bom funcionamento todos os anos são processos complexos. Assim, é aconselhável que isto se faça sob a supervisão de um profissional de segurança biológica, devidamente formado e com experiência. Este profissional deve estar bem familiarizado com a documentação pertinente, enumerada na secção Referências, e ter recebido uma formação sobre todos os aspectos das CSB. Os operadores devem receber uma formação formal sobre o funcionamento e utilização das CSB.

Para mais informações ver referências (*5*) e (*7–16*), bem como Capítulo 11.

11. Equipamento de segurança

Dado que os aerossóis são uma fonte importante de infecção, deve tomar-se a precaução de reduzir as possibilidades da sua formação e dispersão. Diversas operações laboratoriais (fundir, misturar, separar, agitar, mexer, separar por ultra-sons e centrifugar materiais infecciosos) podem produzir aerossóis perigosos. Mesmo quando se utiliza equipamento seguro, é melhor, sempre que possível, efectuar estas operações numa câmara de segurança biológica. No capítulo anterior (*10*) analisa-se a utilização e testes de controlo destas câmaras. A utilização de equipamento de segurança não é, em si, uma segurança de protecção, excepto se o operador estiver devidamente formado e utilizar técnicas adequadas. O equipamento deve ser testado regularmente, a fim de assegurar a eficácia da protecção.

No quadro 10 encontra-se uma lista de controlo do equipamento de segurança, concebida para eliminar ou reduzir certos perigos, bem como um resumo das suas características de protecção. Nas páginas subsequentes, dão-se mais pormenores sobre estes equipamentos. No Capítulo 12, encontra-se informação adicional sobre a sua utilização correcta.

No Anexo 4 encontram-se informações sobre o equipamento e as operações que podem criar perigos.

Isoladores de pressão negativa em plástico flexível

O isolador de pressão negativa em plástico flexível é um dispositivo de confinamento primária completo, que fornece a protecção máxima contra materiais biológicos perigosos. Pode ser montado numa estrutura móvel e o espaço de trabalho está totalmente envolvido num invólucro transparente de cloreto de polivinilo (PVC), suspenso numa estrutura de aço. O isolador é mantido a uma pressão interna inferior à pressão atmosférica. O ar de entrada passa através de um filtro HEPA e o ar de saída através de 2 filtros HEPA, o que evita a necessidade de canalizar o ar usado para o exterior do edifício. O isolador pode ser equipado com incubadora, microscópio e outro equipamento laboratorial, tal como centrifugadoras, gaiolas/caixas para animais, blocos térmicos, etc. O material é introduzido e removido do isolador através de aberturas próprias sem comprometer a segurança microbiológica. O manuseamento das operações é feito com mangas e luvas incorporadas, descartáveis. Existe igualmente um manómetro para controlar a pressão no invólucro.

Quadro 10. ***Equipamento de segurança biológica***

EQUIPAMENTO	RISCO EVITADO	CARACTERÍSTICAS DA SEGURANÇA
Câmara de segurança biológica – Classe I	Aerossóis e salpicos	• Fluxo de ar de entrada mínimo (velocidade frontal) ao nível da abertura de acesso ao trabalho. Filtragem adequada do ar evacuado. • Não fornece protecção ao produto
Câmara de segurança biológica – Classe II	Aerossóis e salpicos	• Fluxo de ar de entrada mínimo (velocidade frontal) ao nível da abertura de acesso ao trabalho. Filtragem adequada do ar evacuado. • Fornece protecção ao produto
Câmara de segurança biológica – Classe III	Aerossóis e salpicos	• Confinamento máximo • Fornece protecção ao produto se tiver fluxo de ar laminar
Isolador de pressão negativa, em plástico flexível	Aerossóis e salpicos	• Confinamento máximo.
Escudo contra salpicos	Salpicos de produtos químicos	• Cria uma barreira entre o operador e a operação
Material de pipetar	Riscos devidos a pipetar com a boca, como ingerir agentes patogénicos, inalar aerossóis produzidos pela sucção na pipeta, derramar líquido ou gotas da pipeta, contaminação da extremidade de sucção da pipeta	• Facilidade de utilização • Controlo da contaminação da extremidade de sucção da pipeta, protecção do meio de pipetar, do utilizador e do circuito de vácuo. • Podem ser esterilizados • Controlo de fugas pela extremidade da pipeta
Microincineradores de ansas, ansas descartáveis	Salpicos das ansas de transferências	• Protegido por um tubo de vidro ou cerâmica fechado numa extremidade. Aquecido a gás ou electricidade • Descartável, aquecimento desnecessário
Recipientes estanques para recolha e transporte dentro do serviço de materiais infecciosos a esterilizar	Aerossóis, derrames e fugas	• Construção estanque com tampa • Duradouros • Utilizáveis em autoclaves

EQUIPAMENTO	RISCO EVITADO	CARACTERÍSTICAS DA SEGURANÇA
Recipientes para objectos cortantes ou afiados descartáveis	Feridas por picadas	• Utilizáveis em autoclaves • Robustos, não perfuráveis
Contentores para transporte entre laboratórios/instituições	Libertação de microrganismos	• Robustos • Contentores primários e secundários impermeáveis, para evitar derrames • Material absorvente para derrames
Autoclaves manuais ou automáticas	Material infeccioso (tornado seguro para eliminar ou reutilizar)	• Concepção aprovada • Esterilização por calor eficaz
Garrafas com tampas de rosca	Aerossóis e derrames	• Confinamento eficaz
Protecção da linha de vácuo	Contaminação do sistema de vácuo do laboratório com aerossóis e fluidos derramados	• Filtro de cartucho evita passagem de aerossóis (tamanho das partículas 0,45 µm) • Frasco de descarga contém desinfectante apropriado. Uma válvula de borracha pode servir para fechar o vácuo automaticamente quando o frasco-depósito estiver cheio. • Todo o equipamento utilizável em autoclave.

Utilizam-se isoladores de plástico flexível para manusear organismos de alto risco (Grupos de Risco 3 e 4) em trabalhos no terreno, onde não é possível nem apropriado instalar ou manter câmaras de segurança biológica convencionais.

Material de pipetar

Deve sempre utilizar-se este material para pipetar, e a sucção com a boca deve ser rigorosamente proibida. Nunca é demais sublinhar a importância de utilizar este material. Os perigos mais comuns ligados à utilização de pipetas são causados pela sucção bucal. A aspiração pela boca e a ingestão de matérias perigosas têm sido responsáveis por muitas infecções de origem laboratorial.

Também é possível transferir agentes patogénicos para a boca quando se põe um dedo contaminado na extremidade de sucção da pipeta. Um perigo menos conhecido é a inalação de aerossóis causados pela sucção. O tampão de algodão não é um filtro eficaz de micróbios, à pressão negativa ou positiva, podendo sugar-se partículas através do mesmo. Pode mesmo ocorrer uma sucção mais violenta, se o tampão estiver muito apertado, aspirando-se o tampão, aerossóis e o próprio líquido. Só a utilização do material próprio de pipetar pode evitar a ingestão de agentes patogénicos.

Podem igualmente produzir-se aerossóis quando caem gotas de uma pipeta na superfície de trabalho, quando se misturam culturas sugando e soprando alternadamente e quando se sopra a última gota de uma pipeta. A inalação de aerossóis, inevitavelmente produzidos durante as operações de pipetar, pode ser evitada trabalhando numa câmara de segurança biológica.

O material de pipetar deve ser escolhido com cuidado. A sua forma e utilização não devem criar um risco adicional de infecção, e o material deve ser fácil de esterilizar e limpar. Para manusear microrganismos e culturas de células devem utilizar-se tampões (resistentes a aerossóis) nas extremidades da pipeta,.

Não devem utilizar-se pipetas com a extremidade de sucção rachada ou lascada, dado que danificam as juntas de encaixe do material de pipetar e tornam-se assim um perigo.

Homogeneizadores, batedores, misturadores e geradores de ultra-sons

Os homogeneizadores domésticos (de cozinha) não são selados e libertam aerossóis. Só deve ser utilizado equipamento que foi concebido para laboratórios, cuja construção minimiza ou evita essa libertação. Os separadores, que podem actualmente ser utilizados para pequenos e grandes volumes, também podem produzir aerossóis.

Os homogeneizadores utilizados para os microrganismos do Grupo de Risco 3 devem ser sempre enchidos e abertos em câmaras de segurança biológica.

Os geradores de ultra-sons podem libertar aerossóis; devem funcionar em câmaras de segurança biológica ou cobertos com protecções durante a sua utilização. As protecções e o exterior do gerador de ultra-sons devem ser descontaminados após a sua utilização.

Ansas descartáveis

A vantagem destas ansas é não precisarem de ser esterilizadas podendo portanto ser utilizadas em câmaras de segurança biológica, onde queimadores Bunsen e microincineradores perturbariam o fluxo do ar. Estas ansas devem ser postas num desinfectante, após a sua utilização, e eliminadas como resíduos contaminados (ver Capítulo 3).

Microincineradores

Os microincineradores a gás e electricidade têm escudos de vidro borossilicato ou de cerâmica, que minimizam os borrifos e aspersão de material infectado quando se esterilizam ansas. Contudo, podem perturbar o fluxo de ar e devem portanto ser colocados na parte detrás da superfície de trabalho das câmaras de segurança biológica.

Equipamento e roupa de protecção pessoal

O equipamento e a roupa de protecção pessoal podem servir de barreira, minimizando o risco de exposição a aerossóis, salpicos e inoculação acidental. A roupa e o equipamento escolhido dependem da natureza do trabalho a efectuar. Deve

vestir-se roupa de protecção quando se trabalha no laboratório. Antes de sair do laboratório, deve tirar-se a roupa de protecção e lavar as mãos. No Quadro 11, a seguir, descreve-se de forma sucinta alguns equipamentos de protecção pessoal utilizados em laboratório e a protecção que fornecem.

Quadro 11. ***Equipamento de protecção pessoal***

EQUIPAMENTO	RISCO EVITADO	CARACTERÍSTICAS DE PROTECÇÃO
Blusas, batas e fatos de laboratório	Contaminação do vestuário	• Abertura atrás • Cobrem o vestuário pessoal
Aventais plásticos	Contaminação do vestuário	• Impermeáveis
Calçado	Impactos e salpicos	• Fechados à frente
Óculos de protecção (tipo óculos de soldador)	Impactos e salpicos	• Lentes resistentes a impactos (opticamente correctas ou utilizadas por cima de óculos de correcção) • Protecções laterais
Óculos de segurança	Impactos	• Lentes resistentes a impactos (opticamente correctas) • Protecções laterais
Viseira de protecção facial	Impactos e salpicos	• Protegem a cara toda • Fácil de tirar em caso de acidente
Aparelhos e máscaras de respiração	Inalação de aerossóis	• Há diversos modelos: descartável, completa ou meia máscara purificadora de ar, completa ou de capuz com ar filtrado à pressão, e com abastecimento de ar
Luvas	Contacto directo com microrganismos	• Em latex, vinilo ou nitrilo microbiologicamente aprovados, descartáveis • Protecção das mãos
	Cortes	• Malha de aço

Blusas, batas, fatos e aventais de laboratório

As blusas de laboratório devem ser totalmente abotoadas. Contudo, batas e fatos de mangas compridas e de apertar atrás dão melhor protecção do que as blusas de laboratório e são preferidos nos laboratórios de microbiologia e quando se trabalha com câmaras de segurança biológica. Quando necessário, podem envergar-se aventais por cima dos fatos ou das batas, a fim de dar uma protecção adicional contra o derrame de produtos químicos ou biológicos, tais como sangue ou fluidos de culturas. Deve existir uma lavandaria nas instalações ou perto delas.

Tais blusas, batas, fatos e aventais não devem ser utilizados fora dos locais do laboratório.

Óculos de protecção, óculos de segurança e viseiras de protecção facial

A escolha do equipamento para proteger os olhos e a cara contra salpicos e impactos de objectos depende da operação a efectuar. Óculos normais ou graduados podem ser fabricados com uma armação especial que permite inserir lentes na frente da armação, utilizando um material inquebrável que acompanha a forma do rosto, ou ser equipados com protecções laterais (óculos de segurança). Os óculos de segurança não fornecem porém uma protecção adequada contra salpicos, mesmo quando acompanhados de protecção lateral. Nesse caso, devem utilizar-se óculos de protecção (tipo óculos de soldador) que protegem contra salpicos e impactos, por cima dos óculos graduados ou lentes de contacto (que não oferecem protecção contra perigos biológicos ou químicos). As viseiras de protecção facial são feitas de plástico inquebrável, ajustam-se à cara e são seguras à cabeça por tiras ou por uma touca.

Óculos de protecção, de segurança e viseiras não devem ser utilizados fora do laboratório.

Respiradores

Ao proceder a trabalhos de alto risco (por exemplo: limpeza de um derrame de material infeccioso) pode ser necessário utilizar material de protecção respiratória. A escolha do respirador depende do tipo de perigo(s). Existem respiradores com filtros permutáveis: protecção contra gazes, vapores, partículas e microrganismos; é imprescindível que o filtro escolhido corresponda ao tipo apropriado de respirador. Para assegurar a protecção ideal, o respirador deve ser instalado na cara do operador e testado. Os respiradores auto-suficientes, com abastecimento de ar integral, asseguram uma protecção total. Deve solicitar-se o conselho de uma pessoa devidamente qualificada, por exemplo um higienista profissional, para escolher o respirador adequado. As máscaras utilizadas em cirurgia foram concebidas para a protecção dos doentes e não asseguram a protecção respiratória dos operadores. Alguns respiradores descartáveis (ISO 13.340.30) foram concebidos para assegurar a protecção contra a exposição a agentes biológicos.

Os respiradores não devem ser utilizados fora das áreas laboratoriais.

Luvas

Durante certas manipulações laboratoriais pode ocorrer a contaminação das mãos. Estas são igualmente vulneráveis a ferimentos causados por objectos cortantes. No trabalho normal de laboratório e no manuseamento de agentes infecciosos, sangue e fluidos corporais, usam-se geralmente luvas descartáveis de latex, vinilo ou nitrilo, microbiologicamente aprovados, semelhantes às utilizadas em cirurgia. Pode igualmente recorrer-se a luvas reutilizáveis, mas tem de assegurar-se a lavagem, remoção, limpeza e desinfecção adequadas das mesmas.

Devem tirar-se as luvas e lavar bem as mãos, após manusear materiais infecciosos, trabalhar em câmaras de segurança biológica e antes de sair do laboratório. Depois de utilizadas, as luvas descartáveis devem ser eliminadas com os resíduos laboratoriais infectados.

Reacções alérgicas como dermatite e hipersensitividade imediata têm sido assinaladas em laboratórios e entre outros trabalhadores que utilizam luvas de latex, particularmente nas que contêm pó. Devem estar disponíveis alternativas às luvas de latex com pó.

Devem utilizar-se luvas de malha de aço inoxidável, sempre que existir a probabilidade de exposição a instrumentos cortantes, como nas autópsias. Estas luvas protegem contra cortes mas não contra perfurações.

Não devem utilizar-se luvas fora das áreas laboratoriais.

Para mais informações ver referências (*12*), (*17*) e (*18*).

PARTE IV

Boas técnicas microbiológicas

12. Técnicas de laboratório

Erros humanos, más técnicas e má utilização do equipamento estão na origem da maioria dos acidentes em laboratório e infecções relacionadas com o trabalho. Este capítulo fornece um resumo de métodos técnicos destinados a evitar ou a reduzir os problemas mais vulgarmente assinalados.

Manipulação segura de amostras em laboratório

A recolha, o transporte e a manipulação de amostras em laboratório não correctamente efectuadas representam um risco de infecção para o pessoal implicado.

Recipientes de amostras

Os recipientes de amostras devem ser de vidro ou de preferência em plástico. Devem ser resistentes e estanques uma vez a tampa ou rolha correctamente colocada. O exterior dos recipientes não deve ter traços do material. Os recipientes devem ser correctamente etiquetados para facilitar a identificação. Os formulários de pedidos ou de especificação de amostras não devem ser embrulhados com os recipientes mas metidos em envelopes de preferência impermeáveis.

Transporte de amostras dentro do serviço

Para evitar escoamento ou derrame acidental, devem utilizar-se recipientes secundários, por exemplo caixas, munidos de separações para que os recipientes com as amostras se mantenham em posição vertical. Estes recipientes secundários podem ser de metal ou de plástico, devem poder ser esterilizados em autoclave ou devem ser resistentes a desinfectantes químicos, e o fecho deve, de preferência, ter uma junta. Devem ser regularmente descontaminados.

Recepção de amostras

Os laboratórios que recebem grande número de amostras devem ter uma sala ou zona especial para tal efeito.

Abertura de embalagens

O pessoal que recebe e desembrulha os recipientes com amostras deve conhecer os riscos potenciais para a saúde que isso implica, e deve ser treinado para adoptar medidas de precaução de base (*2*) especialmente no caso de recipientes partidos ou

que vertem. Os recipientes de amostras devem ser abertos numa câmara de segurança biológica. Devem ter-se à disposição desinfectantes.

Uso de pipetas e meios de pipetar

1. Deve utilizar-se sempre um meio de pipetar. Pipetar com a boca deve ser proibido.
2. Todas as pipetas devem ter um tampão de algodão para reduzir a contaminação dos dispositivos para pipetar
3. Nunca se deve soprar com a pipeta num líquido contendo agentes infecciosos.
4. Não misturar materiais infecciosos aspirando e soprando alternadamente através de uma pipeta.
5. Não soprar na pipeta para expelir os líquidos.
6. Deve dar-se preferência a pipetas graduadas que não necessitam de expulsar as últimas gotas.
7. As pipetas contaminadas devem ser imersas num desinfectante apropriado contido num recipiente inquebrável. Devem ficar no desinfectante durante o tempo que for indicado antes de serem eliminadas.
8. Um recipiente para as pipetas a eliminar deve ser colocado no interior e não no exterior da câmara de segurança biológica.
9. Não se devem utilizar seringas com agulha hipodérmica para pipetar.
10. Devem utilizar-se dispositivos para abrir frascos com cápsula que permitem a utilização de pipetas e evitam a utilização de seringas e agulhas hipodérmicas.
11. Para evitar a dispersão de material infeccioso caído de uma pipeta, a área de trabalho deve ser coberta com um material absorvente que depois deve ser eliminado como resíduo infeccioso.

Evitar a dispersão de materiais infecciosos

1. Para evitar o derrame prematuro do material, as ansas de transferência microbiológica devem ter um diâmetro de 2–3 mm e estar completamente fechadas. Os cabos não devem ter mais de 6 cm de comprido para minimizar a vibração.
2. O risco de projecção de material infeccioso com a chama do bico de Bunsen pode ser evitado utilizando um micro-incinerador eléctrico para esterilizar as ansas de transferência. Devem preferir-se as ansas descartáveis que não precisam de ser esterilizadas.
3. Ao secar amostras de saliva, é preciso ter cuidado para evitar criar aerossóis.
4. Amostras e culturas a esterilizar em autoclave e/ou a eliminar devem ser colocadas em recipientes estanques, por exemplo, sacos de resíduos de laboratório. Antes de colocados em contentores de lixo, devem ser bem fechados (por exemplo, com fita isoladora de autoclave).
5. As zonas de trabalho devem ser descontaminadas com um desinfectante apropriado no fim de cada período de trabalho.

Para mais informações ver referência (*12*).

Utilização de câmaras de segurança biológica

1. A utilização e limitações das CSB devem ser explicadas a todos os utilizadores potenciais (ver Capítulo 10), referindo-se às normas nacionais e documentação apropriada. O pessoal deve receber protocolos escritos ou manuais sobre protecção ou funcionamento. Em especial, deve ser bem explicado que a câmara não protege o trabalhador de derrame, quebra ou técnica deficiente.
2. A câmara só deve ser utilizada se estiver a funcionar correctamente.
3. O painel de vidro não deve ser aberto quando a câmara estiver em funcionamento.
4. Na câmara deve ter-se o mínimo de aparelhos e materiais para não bloquear a circulação do ar no espaço do fundo.
5. Os bicos de Bunsen não devem ser utilizados dentro da câmara. O calor produzido desvia o fluxo de ar e pode danificar os filtros. É possível utilizar um microincinerador mas deve dar-se preferência a ansas de transferência estéreis e descartáveis.
6. Todas as operações devem ser realizadas no centro ou na parte de trás da área de trabalho e devem ser visíveis através do painel.
7. A passagem de pessoal por trás do operador deve ser reduzida ao mínimo.
8. O operador não deve perturbar o fluxo do ar introduzindo ou retirando os braços da câmara repetidamente.
9. As grelhas de ar não devem ser obstruídas com papéis, pipetas ou outro material pois isso interrompe o fluxo do ar causando contaminação potencial do material e exposição do operador.
10. Uma vez o trabalho terminado e no fim do dia, a superfície da câmara de segurança biológica deve ser limpa com um desinfectante apropriado.
11. O ventilador da câmara deve funcionar pelo menos durante 5 minutos antes do início do trabalho e outros 5 depois do trabalho terminado.
12. Nunca se deve colocar documentos dentro das CSB.

Para mais informações sobre câmaras de segurança biológica ver o Capítulo 10.

Evitar a ingestão de material infeccioso e o contacto com a pele e os olhos

1. As partículas e gotículas (>5 µm de diâmetro) libertadas durante as manipulações microbiológicas depositam-se rapidamente nas áreas de trabalho e nas mãos do operador. Devem utilizar-se luvas descartáveis. O pessoal de laboratório deve evitar tocar na boca, olhos e cara.
2. Alimentos e bebidas não devem ser consumidos nem armazenados no laboratório.
3. No laboratório não se deve levar à boca nenhum objecto – canetas, lápis, goma de mascar.
4. Não se deve fazer a maquilhagem no laboratório.
5. Durante operações que possam resultar em projecções de materiais potencialmente infecciosos, deve proteger-se a face, olhos e boca.

Evitar a inoculação de material infeccioso

1. A inoculação acidental devido a ferimento com vidros ou utensílios partidos pode ser evitada com medidas de precaução. Sempre que possível, os utensílios de vidro devem ser substituídos por utensílios em plástico.
2. Ferimentos com agulhas ou seringas hipodérmicas, pipetas de Pasteur de vidro ou vidro partido, por exemplo, podem causar inoculação acidental.
3. Podem reduzir-se os ferimentos com agulhas: (a) limitando ao mínimo o uso de seringas e agulhas (por exemplo, dispondo de dispositivos simples para abrir frascos com cápsulas de forma a utilizar pipetas em vez de seringas e agulhas); (b) utilizando dispositivos de segurança especiais quando as seringas e agulhas são realmente necessárias.
4. As agulhas nunca devem ser reinseridas nos seus invólucros. Os artigos descartáveis devem ser colocados em recipientes especiais imperfuráveis, providos de tampa.
5. As pipetas de vidro devem ser substituídas por pipetas Pasteur de plástico.

Separação de soro

1. Este trabalho só deve ser realizado por pessoal devidamente formado.
2. Devem utilizar-se luvas e protecção para os olhos e as membranas mucosas.
3. Projecções e aerossóis só podem ser evitados ou minimizados com boas técnicas de laboratório. O sangue e o soro devem ser pipetados cuidadosamente e não vazados de um recipiente para outro. Pipetar com a boca deve ser proibido.
4. Depois de utilizadas, as pipetas devem ser completamente submergidas num desinfectante apropriado. Devem ficar no desinfectante durante o tempo que for indicado antes de serem eliminadas ou lavadas e esterilizadas para nova utilização.
5. Tubos de amostras contendo coágulos de sangue, etc. destinados a ser eliminados devem ser tapados com as suas tampas e colocados em recipientes estanques apropriados para esterilização em autoclave e/ou incineração.
6. Desinfectantes adequados devem estar disponíveis para limpar salpicos e derrames (ver Capítulo 14).

Utilização de centrifugadoras

1. O bom funcionamento mecânico de centrifugadoras de laboratório é um requisito prévio de segurança microbiológica na sua utilização.
2. As centrifugadoras devem ser utilizadas segundo as instruções do seu fabricante.
3. As centrifugadoras devem ser colocadas de maneira que os agentes possam ver o interior da cuba para colocar correctamente os recipientes e os copos.
4. Os tubos e recipientes de amostras para centrifugadora devem ser feitos de vidro espesso ou de preferência de plástico e antes de serem utilizados devem ser inspeccionados para detectar defeitos eventuais.
5. Os tubos e recipientes de amostras devem ser sempre bem tapados (se possível com rolhas de rosca) para centrifugação.

6. Os copos devem ser carregados, equilibrados, fechados e abertos em CSB.
7. Os copos e os recipientes devem ser postos aos pares segundo o peso e, uma vez os tubos no lugar, correctamente equilibrados.
8. O espaço que deve ser deixado entre o nível do fluido e a borda do tubo de centrifugação deve estar assinalado nas instruções do fabricante.
9. Para equilibrar os copos vazios deve utilizar-se água destilada ou álcool (propanol a 70%). Não se devem utilizar soluções salinas nem hipocloretos pois corroem os metais.
10. Para microrganismos dos Grupos de Risco 3 e 4 devem utilizar-se copos de centrifugadora fechados (copos de segurança).
11. Ao utilizar rotores angulares, é preciso assegurar-se que os tubos não estejam demasiado cheios pois podem verter.
12. O interior da cuba da centrifugadora deve ser inspeccionado todos os dias para verificar se há manchas ou sujidades a nível do rotor. Havendo provas de manchas ou sujidade, os protocolos de centrifugação devem ser novamente avaliados.
13. Os rotores e copos da centrifugadora devem ser inspeccionados todos os dias para detectar sinais de corrosão e rachas finas.
14. Copos, rotores e cubas das centrifugadoras devem ser descontaminados depois de cada utilização.
15. Depois de utilizados, os copos devem ser guardados invertidos para secar o líquido que serviu para equilibrar.
16. Quando as centrifugadoras estão a funcionar, pode haver ejecção de partículas infecciosas transportadas pelo ar. Tais partículas deslocam-se a velocidades demasiado grandes para poderem ser retidas pelo fluxo de ar da câmara de segurança se a centrifugadora estiver colocada numa câmara de segurança biológica tradicional de abertura frontal de Classe I ou Classe II. Encerrar as centrifugadoras em câmaras de segurança de Classe III evita a dispersão generalizada dos aerossóis emitidos. Contudo, uma boa técnica de centrifugação e tubos cuidadosamente tapados oferece protecção apropriada contra aerossóis infecciosos e partículas dispersas.

Utilização de homogeneizadores, batedores, misturadores e geradores de ultra-sons

1. Os homogeneizadores domésticos (de cozinha) não devem ser utilizados em laboratório pois podem verter ou libertar aerossóis. Misturadores e separadores de laboratório são mais seguros.
2. As tampas e copos ou frascos devem estar em boas condições e sem rachas ou deformações. As tampas devem vedar bem e as juntas devem estar em boas condições.
3. Durante o funcionamento de homogeneizadores, batedores e geradores de ultra-sons, a pressão aumenta no interior dos recipientes, e aerossóis contendo material infeccioso podem escapar-se por interstícios entre estes e as tampas.

Recomendam-se recipientes plásticos, em particular em politetrafluoroetileno (PTFE), pois o vidro pode partir-se libertando material infeccioso e ferindo possivelmente o trabalhador.

4. Durante a utilização, homogeneizadores, batedores e geradores de ultra-sons devem estar cobertos com uma cobertura plástica transparente e robusta que será desinfectada depois da utilização. Sempre que possível, tais máquinas devem ser utilizadas com a sua cobertura numa câmara de segurança biológica.
5. No fim da operação, o recipiente deve ser aberto numa câmara de segurança biológica.
6. Uma protecção auditiva deve ser fornecida ao pessoal utilizando geradores de ultra-sons.

Utilização de separadores de tecidos

1. Os separadores em vidro devem ser envolvidos em material absorvente e seguros por mãos protegidas com luvas. Os separadores plásticos (PTFE) são mais seguros.
2. Os separadores de tecidos devem ser utilizados e abertos numa câmara de segurança biológica.

Manutenção e utilização de frigoríficos e congeladores

1. Frigoríficos, congeladores e arcas de dióxido de carbono sólido (neve carbónica) devem ser descongelados e limpos periodicamente, e ampolas, tubos, etc. quebrados durante a conservação devem ser retirados. Durante a limpeza, deve utilizar-se uma protecção facial e luvas de borracha resistentes. Depois da limpeza, devem desinfectar-se as superfícies internas da câmara.
2. Todos os recipientes conservados em frigoríficos, etc. devem estar claramente etiquetados com o nome científico do conteúdo, a data em que foram colocados no frigorífico e o nome da pessoa que o fez. Materiais sem etiqueta e antigos devem ser desinfectados em autoclave e eliminados.
3. Deve manter-se um inventário do conteúdo do congelador.
4. Não se devem guardar soluções inflamáveis num frigorífico excepto se este for à prova de explosão. Para este efeito, devem colocar-se avisos nas portas dos mesmos.

Abertura de ampolas contendo material infeccioso liofilizado

É preciso ter cuidado quando se abrem ampolas de material liofilizado pois, estando o interior da ampola a uma pressão inferior, a entrada súbita de ar pode dispersar uma parte do conteúdo na atmosfera. As ampolas devem ser sempre abertas numa câmara de segurança biológica. O processo recomendado é:

1. Primeiro, desinfectar a superfície exterior da ampola.
2. Fazer um traço no tubo com uma lima mais ao menos a meio do tampão de algodão ou celulose, se este existir.
3. Segurar a ampola com algodão embebido em álcool para proteger as mãos antes de a partir no risco da lima.

4. Retirar delicadamente a parte superior da ampola e tratá-la como material contaminado.
5. Se o tampão de algodão ainda estiver por cima do conteúdo da ampola, removê-lo com pinças esterilizadas.
6. Juntar líquido para voltar a formar a suspensão tendo o cuidado de o fazer lentamente para evitar a formação de espuma.

Armazenagem de ampolas contendo material infeccioso

Ampolas contendo material infeccioso nunca devem ser mergulhadas em azoto líquido pois pode haver o risco das que estão rachadas ou mal arrolhadas partirem ou explodirem à saída. Sendo necessário temperaturas muito baixas, as ampolas devem ser conservadas unicamente na fase gasosa acima do azoto líquido. Também se pode armazenar material infeccioso em criostato ou neve carbónica. O pessoal de laboratório deve usar protecção para os olhos e as mãos quando retira ampolas assim armazenadas.

A superfície externa das ampolas deve ser desinfectada quando são retiradas da armazenagem.

Precauções de base com sangue e outros fluidos, tecidos e excreções orgânicos

Precauções de base (que incluem « precauções universais » (*19*) são destinadas a reduzir o risco de transmissão de microrganismos tanto de fontes de infecção reconhecidas como desconhecidas (*2*).

Recolha, etiquetagem e transporte de amostras

1. Devem sempre tomar-se as precauções de base (*2*); usar luvas para todas as manipulações.
2. A recolha de sangue de pacientes e animais deve ser feita por pessoal com experiência.
3. Para flebotomias, os sistema convencionais de agulha e seringa devem ser substituídos por dispositivos de segurança descartáveis (recolha no vácuo) que permitem a recolha de sangue directamente para tubos fechados de transporte e/ou de cultura, inutilizando automaticamente a agulha no fim da operação.
4. Os tubos devem ser colocados em recipientes adequados para transporte até ao laboratório (ver Capítulo 15) e dentro do laboratório (ver neste Capítulo a secção sobre transporte de amostras dentro do serviço). Os formulários de pedido devem ser colocados à parte em sacos ou envelopes impermeáveis.
5. O pessoal que recebe as amostras **não** deve abrir estes sacos.

Abertura de tubos com amostras e conteúdos de amostragens

1. Os tubos de amostras devem ser abertos numa câmara de segurança biológica.
2. O uso de luvas é obrigatório. Também se recomenda protecção para olhos e membranas mucosas (óculos de protecção ou viseiras).

3. A roupa de protecção deve ser completada com um avental de plástico.
4. Para evitar projecções, deve pegar-se no tampão com uma folha de papel ou gaze.

Vidro e objectos cortantes

1. Sempre que possível, o vidro deve ser substituído por plástico. Só deve ser usado vidro resistente (borossilicato), e o material deteriorado ou rachado deve ser eliminado.
2. As agulhas hipodérmicas não devem ser utilizadas como pipetas (ver também neste Capítulo a secção sobre Evitar a inoculação de material infeccioso).

Esfregaços para microscopia

Fixar e colorir amostras de sangue, expectoração e fezes para microscopia não mata necessariamente todos os organismos ou vírus nos esfregaços. Tais artigos devem ser manipulados com pinças, guardados correctamente e descontaminados e/ou desinfectados em autoclave antes de serem eliminados.

Equipamento automático (gerador de ultra-sons, misturador de vórtice)

1. O equipamento deve ser de preferência fechado para evitar projecções de gotículas e aerossóis.
2. Os efluentes devem ser recolhidos em recipientes fechados para desinfecção em autoclave e/ou eliminação.
3. O equipamento deve ser desinfectado no fim de cada sessão, segundo as instruções do fabricante.

Tecidos

1. Deve utilizar-se fixadores de formaldeído.
2. Deve evitar-se cortes em congelação. Quando necessário, o criostato deve ser protegido e o trabalhador deve usar uma viseira. Para descontaminação, a temperatura do instrumento deve subir pelo menos a 20°C.

Descontaminação

Para descontaminação recomendam-se os hipocloretos e desinfectantes do melhor nível. Soluções de hipocloretos preparadas no momento devem conter cloro activo a 1g/l quando são destinadas para uso geral e 5g/l quando são utilizadas para limpar sangue derramado. Para descontaminar superfícies pode utilizar-se o glutaraldeído (ver Capítulo 14).

Precauções a ter com materiais podendo conter priões

Os priões (também conhecidos como « vírus lentos ») estão associados a encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSE), principalmente a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD, incluindo a nova variante), síndroma Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insónia familiar fatal e kuru em seres humanos; « scrapie » em carneiros e cabras; encefalopatia espongiforme bovina (BSE) em gado bovino; e outras encefalopatias

transmissíveis em veados, alces e martas. Embora a doença de Creutzfeldt-Jakob tenha sido transmitida a humanos, não parece haver casos provados de infecções associadas a laboratórios com quaisquer de tais agentes. Contudo, é prudente adoptar certas precauções durante a manipulação de material proveniente de pessoas ou animais infectados ou potencialmente infectados.

A escolha de um nível de segurança biológica para trabalhar com materiais associados às TSE dependerá da natureza do agente e das amostras a estudar, e deve ser feita em consulta com as autoridades nacionais. É no tecido do sistema nervoso central que se encontram as maiores concentrações de priões. Estudos sobre animais sugerem a probabilidade de também se encontrar grandes concentrações de priões no baço, timo, nódulos linfáticos e pulmão. Estudos recentes indicam que a presença de priões em tecido muscular da língua e do esqueleto também pode apresentar um risco de infecção potencial (*20–23*).

Como inactivar completamente os priões é difícil de conseguir, é importante privilegiar a utilização de instrumentos descartáveis sempre que possível, bem como de uma cobertura protectora descartável para cobrir a superfície de trabalho da câmara de segurança biológica.

A principal precaução a tomar é evitar a ingestão de material contaminado ou a punção da pele do pessoal de laboratório. Como os agentes não são destruídos pelos processos normais de desinfecção e esterilização utilizados em laboratório, devem ser tomadas as seguinte precauções suplementares.

1. A utilização de equipamento exclusivo, isto é, equipamento não compartilhado com outros laboratórios é fortemente recomendada.
2. Deve utilizar-se roupa de protecção de laboratório (bata e avental) e luvas (para patologistas, luvas de malha de aço entre luvas de borracha).
3. A utilização de artigos de plástico descartáveis, que podem ser tratados e eliminados como resíduos secos é fortemente recomendada.
4. Os processadores de tecidos não devem ser utilizados devido a problemas de desinfecção. Em vez disso, devem utilizar-se frascos e provetas.
5. Todas as manipulações devem ser realizadas em CSB.
6. Devem tomar-se as maiores precauções para evitar a formação de aerossóis, ingestão de produtos e cortes e picadelas na pele.
7. Os tecidos fixados ao formol devem ser considerados como ainda infecciosos, mesmo depois de exposição prolongada.
8. Amostras histológicas contendo priões são largamente inactivadas depois de expostas a ácido fórmico a 96% durante uma hora (*24*), (*25*).
9. Os resíduos de trabalho, incluindo luvas, batas e aventais descartáveis, devem ser desinfectados em autoclave utilizando um esterilizador a vapor a 134–137°C durante um único ciclo de 18 minutos, ou seis ciclos sucessivos de 3 minutos cada, seguido de incineração.
10. Instrumentos não descartáveis, incluindo luvas de malha de aço, devem ser recolhidos para descontaminação.

11. Resíduos líquidos infecciosos contaminados com priões devem ser tratados com hipocloreto de sódio com cloro activo a 20g/l (2%) (concentração final) durante 1 hora.
12. A vaporização com paraformaldeído não diminui os títulos de priões os quais também são resistentes a irradiação por ultravioletas. Contudo, as câmaras devem continuar a ser descontaminadas utilizando os métodos normais (por exemplo, com gás formaldeído) para inactivar outros agentes que possam estar presentes.
13. CSB e outras superfícies contaminadas por priões podem ser descontaminadas com hipocloreto de sódio contendo cloro activo a 20g/l (2%) durante 1 hora.
14. Filtros de partículas de ar de alta eficiência (HEPA) devem ser incinerados a uma temperatura mínima de 1000°C depois de removidos. Outras medidas recomendadas antes da incineração incluem:
    a. pulverizar a face exposta do filtro com laca do cabelo antes da sua remoção,
    b. ensacar os filtros durante a remoção, e
    c. remover o filtro HEPA da câmara de trabalho para que o plenum (não acessível) da câmara não seja contaminado.
15. Os instrumentos devem ser mergulhados em hipocloreto de sódio contendo cloro activo a 20g/l (2%) durante 1 hora e depois bem passados por água antes de serem esterilizados em autoclave.
16. Os instrumentos que não podem ser desinfectados em autoclave podem ser limpos molhando-os repetidamente com hipocloreto de sódio contendo cloro activo a 20g/l (2%) durante 1 hora. É necessário uma lavagem correcta para remover o hipocloreto de sódio residual.

Para mais informações sobre o manuseamento de agentes não convencionais ver referências (*12*), (*26*) e (*27*).

13. Planos de emergência e medidas a tomar

Qualquer laboratório que trabalhe com microrganismos infecciosos deve estabelecer medidas de segurança apropriadas aos riscos inerentes aos organismos e animais manipulados.

Um plano de emergência escrito para acidentes em laboratório e instalações para animais é uma necessidade em qualquer serviço que trabalhe com ou guarde microrganismos dos Grupos de Risco 3 ou 4 (laboratório de confinamento – Nível 3 de segurança biológica e laboratório de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica). As autoridades sanitárias nacionais e/ou locais devem participar na elaboração do plano de preparação para casos de emergência.

Plano de emergência

O plano deve indicar os procedimentos operacionais:

1. Precauções contra desastres naturais, por exemplo, incêndio, inundação, tremor de terra e explosão
2. Avaliação do risco de perigo biológico
3. Medidas a tomar em caso de exposição acidental e descontaminação
4. Evacuação de emergência de pessoas e animais presentes nos locais
5. Tratamento médico de urgência de pessoas expostas e feridas
6. Vigilância médica das pessoas expostas
7. Tratamento clínico das pessoas expostas
8. Investigação epidemiológica
9. Continuação das operações depois do acidente.

Ao elaborar este plano, prever a inclusão dos seguintes pontos:

1. Identificação de organismos de alto risco
2. Localização de zonas de alto risco, por exemplo, laboratórios, zonas de armazenagem, instalações para animais
3. Identificação de pessoal e populações a risco
4. Identificação do pessoal responsável e suas obrigações, por exemplo, responsável da segurança biológica, pessoal de segurança, autoridade sanitária local, médicos, microbiologistas, veterinários, epidemiologistas, bombeiros e polícia
5. Listas de serviços de tratamento e isolamento que podem receber pessoas expostas ou infectadas

6. Transporte de pessoas expostas ou infectadas
7. Listas de fontes de soro imune, vacinas, medicamentos, material e fornecimentos especiais
8. Provisão de material de emergência, por exemplo, roupa de protecção, desinfectantes, conjuntos para derrames químicos e biológicos, material e equipamentos de descontaminação.

Medidas de emergência em laboratórios microbiológicos

Ferimentos por picadas, cortes e abrasão

A pessoa acidentada deve retirar a roupa de protecção, lavar as mãos e qualquer outra zona afectada, aplicar um desinfectante cutâneo apropriado, e se necessário consultar um médico. Deve notificar-se a causa do ferimento e os organismos implicados, e manter registos médicos correctos e completos.

Ingestão de material potencialmente infeccioso

Tirar a roupa de protecção e consultar um médico. Identificar e notificar às autoridades o material ingerido e as circunstâncias do incidente, e manter registos médicos correctos e completos.

Formação de aerossóis potencialmente infecciosos (fora de uma câmara de segurança biológica)

Todas as pessoas devem evacuar a área afectada e as que tenham sido expostas devem ser encaminhadas para um médico. O supervisor do laboratório e o responsável da segurança biológica devem ser informados imediatamente. Ninguém deve entrar na sala durante um espaço de tempo apropriado (por exemplo, 1 hora), para permitir a evacuação dos aerossóis e o depósito das partículas mais pesadas. Se o laboratório não tiver um sistema central de exaustão do ar, a entrada deve ser retardada, por exemplo, de 24 horas.

Devem colocar-se sinais indicando que a entrada é proibida. Após este prazo, a descontaminação deve continuar controlada pelo responsável da segurança biológica. Deve utilizar-se roupa de protecção apropriada e protecção respiratória.

Recipientes partidos e substâncias infecciosas derramadas

Recipientes partidos contaminados com substâncias infecciosas e substâncias infecciosas derramadas devem ser cobertos com panos ou papel absorvente. Estes são depois regados com um desinfectante que fica a actuar durante o tempo devido. O pano ou papel e o material partido são então retirados; os fragmentos de vidro devem ser manipulados com pinças. A área contaminada deve então ser esfregada com um desinfectante. Se para retirar o material partido forem utilizados apanhadores, estes devem ser esterilizados em autoclave ou imersos num desinfectante eficaz. Panos, papéis e esfregões utilizados para limpar devem ser colocados num recipiente de resíduos contaminados. Todas estas acções devem ser efectuadas com luvas.

Se formulários ou outros documentos impressos ou escritos à mão estiverem contaminados, a informação neles contida deve ser copiada e o original deitado para o recipiente de resíduos contaminados.

Quebra de tubos contendo material potencialmente infeccioso dentro de centrifugadoras que não têm recipientes estanques

Se ocorrer ou se suspeitar de uma quebra enquanto a máquina está em funcionamento, parar o motor e deixar a máquina fechada durante uns 30 minutos para permitir o depósito do material. Se a quebra for descoberta quando a máquina pára, voltar a fechar a tampa imediatamente e esperar cerca de 30 minutos. Nos dois casos, o responsável da segurança biológica deve ser informado.

Para todas as operações seguintes devem utilizar-se luvas resistentes (por exemplo, de borracha espessa), cobertas, se necessário, com luvas descartáveis. Para retirar restos de vidro, devem utilizar-se pinças guarnecidas ou não de algodão.

Todos os tubos partidos, fragmentos de vidro, recipientes e o rotor devem ser colocados num desinfectante não-corrosivo cuja eficácia contra o organismo implicado é conhecida (ver Capítulo 14). Os tubos intactos e arrolhados podem ser colocados em desinfectante num recipiente separado e depois recuperados.

A cuba da centrifugadora deve ser esfregada com o mesmo desinfectante numa diluição apropriada e esfregada de novo, lavada com água e seca. Todos os materiais utilizados na limpeza devem ser considerados como resíduos infecciosos.

Quebra de tubos encerrados em recipientes de centrifugação fechados (copos de segurança)

Todos os recipientes de centrifugadora fechados devem ser carregados e descarregados numa câmara de segurança biológica. Se houver suspeita de quebras dentro do recipiente, a tampa de segurança pode ser relaxada e o recipiente esterilizado em autoclave. Como alternativa, o recipiente de segurança pode ser quimicamente desinfectado.

Incêndio e desastres naturais

Os serviços de socorros em caso de incêndio e outros desastres devem participar à elaboração de planos de preparação para emergências. Devem ser informados antecipadamente da localização das salas que contêm materiais potencialmente infecciosos. Será benéfico organizar uma visita do pessoal desses serviços ao laboratório para ficar a conhecer o traçado dos locais e seu conteúdo.

Depois de um desastre natural os serviços de emergência locais ou nacionais devem ser prevenidos dos riscos potenciais existentes dentro e/ou perto dos edifícios do laboratório. Só devem entrar nos locais acompanhados de um membro devidamente formado do pessoal. Os materiais infecciosos devem ser recolhidos em caixas estanques ou sacos descartáveis resistentes.

A equipa de segurança biológica é que deve determinar, com base em regulamentos locais, o que deve ser recuperado ou eliminado.

Serviços de emergência: quem contactar

Os números de telefone e endereços das pessoas e serviços abaixo designados devem estar afixados nas instalações de modo bem visível:

1. A própria instituição ou laboratório (a pessoa que telefona ou o serviço que recebe a chamada pode não conhecer bem o endereço e a localização)
2. O director da instituição ou laboratório
3. O supervisor do laboratório
4. O responsável da segurança biológica
5. Os serviços de incêndio
6. Hospitais/serviços de ambulâncias/pessoal médico (nomes de postos de saúde, departamentos, e/ou pessoal médico se possível)
7. Polícia
8. Médico
9. Técnico responsável
10. Os serviços de água, de gás e de electricidade.

Material de emergência

O material de emergência seguinte deve estar disponível:

1. Mala de primeiros socorros incluindo antídotos universais e especiais.
2. Extintores de incêndio apropriados, cobertores para fogo.

Também se sugere o material a seguir, mas que pode variar segundo as circunstâncias locais:

1. Roupa de protecção total (fatos especiais de uma só peça, luvas e touca – para incidentes implicando microrganismos dos Grupos de Risco 3 e 4)
2. Máscaras respiratórias completas com filtros apropriados para produtos químicos e partículas
3. Aparelhos de desinfecção das salas, por exemplo, pulverizadores e vaporizadores de formol
4. Macas
5. Utensílios, como martelos, machados, chaves-inglesas, chaves de parafusos, escadotes, cordas
6. Equipamento para marcar e sinalizar a área de perigo.

Para mais informações ver referências (*12*) e (*28*).

14. Desinfecção e esterilização

Para a segurança biológica do laboratório é crucial um conhecimento básico de desinfecção e esterilização. Como os artigos muito contaminados não podem ser desinfectados nem esterilizados prontamente, é igualmente importante compreender os fundamentos da limpeza antes da desinfecção (limpeza prévia). A este respeito os seguintes princípios gerais aplicam-se a todas as classes conhecidas de agentes patogénicos microbianos, com a excepção notável dos priões que são examinados separadamente neste capítulo.

As exigências específicas de descontaminação dependerão do tipo de experiência e da natureza do agente ou agentes infecciosos manipulados. A informação genérica aqui fornecida pode ser utilizada para elaborar tanto procedimentos padrões como outros mais específicos para enfrentar riscos biológicos num dado laboratório.

O tempo de aplicação de desinfectantes é específico a cada material e fabricante. Assim, todas as recomendações para utilização de desinfectantes devem seguir as especificações dos fabricantes.

Definições

Em desinfecção e esterilização utilizam-se os mais variados termos. Os seguintes estão entre os mais comuns em segurança biológica:

Antimicrobiano – Agente que mata microrganismos ou impede o seu desenvolvimento e multiplicação.

Anti-séptico – Substância que inibe o crescimento e desenvolvimento de microrganismos sem necessariamente os matar. Anti-sépticos são normalmente aplicados sobre superfícies do corpo.

Biocida – Termo geral para qualquer agente que mata organismos.

Germicida químico – Substância química ou mistura de substâncias químicas utilizadas para matar microrganismos.

Descontaminação – Qualquer processo de remoção e/ou eliminação de microrganismos. O mesmo termo é também utilizado para remoção ou neutralização de produtos químicos perigosos e materiais radioactivos.

Desinfectante – Substância química ou mistura de substâncias químicas utilizadas para matar microrganismos, mas não necessariamente esporos. Desinfectantes são normalmente aplicados em superfícies ou objectos inanimados.

Desinfecção – Meio físico ou químico de matar microrganismos, mas não necessariamente esporos.

Esporocida – Substância química ou mistura de substâncias químicas utilizadas para matar microrganismos e esporos.

Esterilização – Processo que mata e/ou remove todas as classes de microrganismos e esporos.

Microbicida – Substância química ou mistura de substâncias químicas que matam microrganismos. O termo é muitas vezes utilizado em vez de « biocida », « germicida químico » ou « antimicrobiano ».

Limpar materiais de laboratório

Limpar significa remover o lixo, a matéria orgânica e as manchas, e inclui escovar, aspirar, limpar a seco, lavar ou esfregar com água contendo sabão ou detergente. Lixo, terra e matéria orgânica podem servir de protecção a microrganismos e podem interferir com a acção destruidora de produtos de descontaminação (anti-sépticos, germicidas químicos e desinfectantes).

Para se conseguir uma desinfecção ou esterilização correcta, é essencial proceder a uma limpeza prévia. Muitos produtos germicidas só são activos em materiais previamente limpos. A limpeza prévia deve ser realizada com cuidado para evitar exposição a agentes infecciosos.

Devem utilizar-se materiais quimicamente compatíveis com os germicidas a aplicar mais tarde. É vulgar utilizar o mesmo germicida químico para limpeza prévia e desinfecção.

Germicidas químicos

Há muitos tipos de químicos que podem ser usados como desinfectantes e/ou anti-sépticos. Como existe um número e variedade crescente de produtos comerciais, as composições devem ser cuidadosamente escolhidas segundo necessidades específicas.

A actividade germicida de muitos produtos químicos desenvolve-se melhor e mais rapidamente com o aumento da temperatura. Contudo, temperaturas altas podem acelerar a sua evaporação e também provocar a sua degradação. Um cuidado especial é necessário para utilizar e armazenar tais produtos químicos em regiões tropicais onde a sua validade pode ser mais curta devido às altas temperaturas ambientais.

Muitos germicidas podem ser nocivos para os seres humanos ou para o meio ambiente. Devem ser escolhidos, armazenados, manipulados, utilizados e eliminados com cuidado, respeitando as instruções dos fabricantes. Para protecção pessoal, recomenda-se a utilização de luvas, aventais e protecções oculares durante a preparação de diluições de germicidas químicos.

Para a limpeza regular de solos, paredes, materiais e mobiliário não se exige geralmente germicidas químicos. Contudo, o seu uso pode ser apropriado em certos casos de controlo de surtos.

Quadro 12. ***Diluições recomendadas de compostos libertando cloro***

	SITUAÇÃO « LIMPA »[a]	SITUAÇÃO « SUJA »[b]
Cloro activo necessário	0,1% (1 g/l)	0,5% (5 g/l)
Solução de hipocloreto de sódio (5% de cloro activo)	20 ml/l	100 ml/l
Solução de hipocloreto de cálcio (70% de cloro activo)	1,4 g/l	7,0 g/l
Pó de dicloroisocianureto de sódio (60% de cloro activo)	1,7 g/l	8,5 g/l
Comprimidos de dicloroisocianureto de sódio (1,5 g de cloro activo/comprimido)	1 comprimido/l	4 comprimidos/l
Cloramina (25% de cloro activo)[c]	20 g/l	20 g/l

[a] Depois do lixo mais importante ter sido removido.
[b] Para deitar directamente, por exemplo, sobre o sangue ou antes do lixo mais importante ter sido removido.
[c] Ver texto.

A utilização correcta de germicidas químicos contribuirá para segurança no local de trabalho, reduzindo ao mesmo tempo o risco de agentes infecciosos. Tanto quanto possível, o número de germicidas químicos a utilizar deve ser limitado por razões económicas e de controlo de inventário, e para limitar a poluição ambiental.

Descreve-se a seguir classes de germicidas químicos vulgarmente utilizados, com informações genéricas sobre as suas aplicações e perfis de segurança. Se não houver outras indicações, as concentrações de germicida são dadas em peso/volume (w/v). O Quadro 12 resume as diluições recomendadas de compostos que libertam cloro.

Cloro (hipocloreto de sódio)

O cloro, oxidante rápido, é um germicida químico disponível em toda a parte e de vasto campo de acção. É vendido normalmente como lixívia, uma solução aquosa de hipocloreto de sódio (NaOCI) que pode ser diluída com água resultando em várias concentrações de cloro activo.

O cloro, especialmente como lixívia, é muito alcalino e pode corroer os metais. A sua actividade é fortemente reduzida pela matéria orgânica (proteína). Reservas ou soluções de lixívia armazenadas em recipientes abertos, especialmente a altas temperaturas, libertam gás de cloro o que enfraquece o seu potencial germicida. A frequência com que se devem mudar as soluções de lixívia para trabalhar depende da sua concentração inicial, tipo (por exemplo, com ou sem tampa) e tamanho dos recipientes, frequência e natureza da utilização e condições ambientes. De uma maneira geral, as soluções destinadas a materiais com altos níveis de matéria orgânica várias vezes ao dia, devem ser mudadas pelo menos diariamente, enquanto as utilizadas com menos frequência podem chega a durar uma semana.

Um desinfectante geral deve ter uma concentração de 1 g/l de cloro activo. Para o caso de derrames que representem riscos biológicos e na presença de grandes quantidades de matéria orgânica recomenda-se uma solução mais forte contendo 5 g/l de cloro activo. As soluções de hipocloreto de sódio, como a lixívia doméstica, contêm 50 g/l de cloro activo e devem por isso ser diluídas a 1 : 50 ou 1 : 10 para obter concentrações finais de 1 g/l e 5 g/l respectivamente. As soluções industriais de lixívia têm uma concentração de hipocloreto de sódio de cerca de 120 g/l e devem ser diluídas de maneira a obter os níveis acima indicados.

Os grânulos ou comprimidos de hipocloreto de cálcio ($Ca(ClO)_2$) contêm geralmente cerca de 70% de cloro activo. Assim, soluções preparadas com grânulos ou comprimidos, contendo 1,4 g/l e 7,0 g/l, contêm respectivamente 1,0 g/l e 5 g/l de cloro activo.

A lixívia não é aconselhada como anti-séptico mas pode ser utilizada como desinfectante universal e para mergulhar materiais contaminados que não contenham metal. Em casos de emergência, a lixívia também pode ser utilizada para desinfectar a água de beber, com uma concentração final de 1–2 mg/l de cloro activo.

O gás de cloro é muito tóxico e por isso a lixívia deve ser armazenada e utilizada unicamente em áreas bem ventiladas. Também não deve ser misturada com ácidos para evitar a libertação rápida de gás de cloro. Muitos produtos derivados de cloro podem ser nocivos para os humanos e o meio ambiente, e assim deve ser evitado o uso indiscriminado de desinfectantes baseados em cloro, em particular a lixívia.

Dicloroisocianureto de sódio

O dicloroisocianureto de sódio (NaDCC) sob a forma de pó contém 60% de cloro activo. Soluções preparadas com pó de NaDCC a 1,7 g/l e 8,5 g/l terão 1 g/l ou 5 g/l de cloro activo respectivamente. Os comprimidos de NaDCC contêm geralmente o equivalente a 1,5 g/l de cloro activo por comprimido. Um ou quatro comprimidos dissolvidos em 1 l de água darão as concentrações exigidas de 1 g/l ou 5 g/l de cloro activo respectivamente. NaDCC em pó ou comprimidos é mais fácil e seguro de armazenar. NaDCC sob a forma sólida pode ser aplicado sobre derrames de sangue ou outros líquidos biologicamente perigosos e deixado durante pelo menos 10 minutos antes de removido. A limpeza da área afectada pode então ter lugar.

Cloraminas

As cloraminas existem em pó contendo cerca de 25% de cloro activo. Atendendo a que as cloraminas libertam o cloro mais lentamente que os hipocloretos, as concentrações iniciais devem ser superiores para que a eficácia seja equivalente à dos hipocloretos. Por outro lado, as soluções de cloramina não são inactivadas por matéria orgânica tanto quanto as soluções de hipocloreto, sendo recomendado tanto para situações « limpas » como para situações « sujas » concentrações de 20 g/l.

As soluções de cloramina são virtualmente sem odor. Contudo, os artigos imersos nestas soluções devem ser muito bem passados por água corrente para remover

qualquer resíduo da maioria dos agentes adicionados aos pós de cloramina-T (tosil-cloramide de sódio).

Dióxido de cloro

O dióxido de cloro (CLO_2) é um germicida potente e de acção rápida, agente desinfectante e oxidante, muitas vezes notificado como activo a níveis de concentração inferiores aos do cloro ou da lixívia. O gás resultante de dióxido de cloro é instável e sofre decomposição em gás de cloro (Cl_2), oxigénio (O_2), produzindo calor. Contudo, o dióxido de cloro é solúvel em água e estável numa solução aquosa. Pode ser obtido de duas maneiras: (1) misturando dois componentes separados, ácido hidroclórico (HCI) e cloreto de sódio ($NaCIO_2$); e (2) encomendando a sua forma estabilizada que é depois activada no sítio quando necessário.

Dos biocidas oxidantes, o dióxido de cloro é o mais selectivo. O ozono e o cloro são muito mais reactivos do que o dióxido de cloro, e serão consumidos pela maior parte dos compostos orgânicos. Contudo, o dióxido de cloro só reage com compostos de enxofre reduzidos, aminas secundárias e terciárias, e outros compostos orgânicos muito reduzidos e reactivos. Assim, pode conseguir-se um resíduo mais estável com dióxido de cloro a doses muito mais baixas do que utilizando cloro ou ozono. Produzido correctamente, o dióxido de cloro pode ser usado mais eficazmente do que ozono ou cloro em casos de maior carga orgânica devido à sua selectividade.

Formaldeído

O formaldeído (HCHO) é um gás que mata todos os microrganismos e esporos a temperaturas superiores a 20°C. Contudo, não é activo contra priões.

O formaldeído actua lentamente e necessita de um nível de humidade relativa de cerca de 70%. É comercializado sob a forma de polímero sólido, o paraformaldeído, em flocos ou comprimidos, ou como formalina, uma solução do gás em água de cerca de 370 g/l (37%) contendo metanol (100 ml/l) como estabilizador. Ambas as formas são aquecidas para libertação do gás que é utilizado para descontaminação e desinfecção de espaços fechados tais como câmaras e salas de segurança (ver secção sobre Descontaminação do meio ambiente local neste capítulo). O formaldeído (5% de formalina em água) pode ser utilizado como desinfectante líquido.

Suspeita-se que o formaldeído seja cancerígeno. É um gás perigoso, irritante, com um odor forte e cujos fumos podem irritar os olhos e as membranas mucosas. Assim, deve ser armazenado e utilizado em salas com chaminé ou bem ventiladas. Devem respeitar-se os regulamentos nacionais sobre segurança química.

Glutaraldeído

Tal como o formaldeído, o glutaraldeído ($OHC(CH_2)_3CHO$) é também activo contra bactérias vegetativas, esporos, fungos e vírus lipídicos e não lipídicos. É não corrosivo e actua mais depressa do que o formaldeído. Contudo, leva várias horas a matar esporos bacterianos.

O glutaraldeído é geralmente fornecido como uma solução com uma concentração de cerca de 20 g/l (2%) e certos produtos podem necessitar, antes da sua utilização, de ser « activados » (tornados alcalinos) pela adição de um composto de bicarbonato fornecido com o produto. A solução activada pode ser reutilizada durante 1–4 semanas dependendo da fórmula e do tipo e frequência da sua utilização. As tiras reactivas fornecidas com certos produtos só dão uma indicação aproximativa dos níveis de glutaraldeído activo disponível nas soluções utilizadas. Uma vez que se tornam turvas, as soluções de glutaraldeído devem ser eliminadas.

O glutaraldeído é tóxico e irritante para a pele e membranas mucosas, e deve evitar-se o seu contacto. Deve ser utilizado em salas com chaminé ou áreas bem ventiladas. Não é recomendado para pulverizações ou como solução para descontaminação de superfícies ambientais. Os regulamentos nacionais de segurança química devem ser respeitados.

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, um vasto grupo de agentes, foram dos primeiros germicidas. Contudo, preocupações mais recentes sobre segurança restringem a sua utilização. São activos contra bactérias vegetativas e vírus lipídicos e, na fórmula correcta, também mostram actividade contra micobactérias. Não são activos contra esporos e a sua actividade contra vírus não lipídicos é variável. Muitos produtos fenólicos são utilizados para descontaminação de superfícies ambientais, e alguns deles (por exemplo, triclosan e cloroxilenol) estão entre os anti-sépticos mais vulgarmente utilizados.

O triclosan é corrente em produtos de lavar as mãos. É activo principalmente contra bactérias vegetativas e é inócuo para a pele e as membranas mucosas. Contudo, em estudos baseados em laboratório, bactérias tornadas resistentes a concentrações fracas de triclosan também mostraram resistência a certos tipos de antibióticos. O significado eventual destes resultados no terreno não é conhecido.

Certos compostos fenólicos são sensíveis a e podem ser inactivados pela dureza da água e por isso devem ser diluídos com água distilada ou desionizada.

Não se recomenda a utilização de compostos fenólicos em superfícies em contacto com alimentos e em áreas com crianças pequenas. Podem ser absorvidos pela borracha e também podem penetrar na pele. Os regulamentos nacionais de segurança química devem ser respeitados.

Compostos de amónio quaternário

Muitos tipos de compostos de amónio quaternário são utilizados como misturas e muitas vezes em combinação com outros germicidas tal como alcoóis. São bem activos contra certas bactérias vegetativas e vírus lipídicos. Certos tipos (por exemplo, cloreto de benzalkonium) são utilizados como anti-sépticos.

A actividade germicida de certos tipos de compostos de amónio quaternário é muito reduzida com matéria orgânica, dureza da água e detergentes aniónicos. Assim,

é preciso ter cuidado ao escolher agentes para limpeza prévia quando se vai utilizar na desinfecção compostos de amónio quaternário. Bactérias potencialmente nocivas podem desenvolver-se em soluções de compostos de amónio quaternário. Devido a fraca biodesintegração estes compostos podem também acumular-se no meio ambiente.

Alcoóis

O etanol (álcool etílico, C_2H_5OH) e o 2-propanol (álcool isopropílico, $(CH_3)_2CHOH$) têm propriedades desinfectantes similares. São activos contra bactérias vegetativas, fungos e vírus lipídicos mas não contra esporos. A sua acção sobre vírus não-lipídicos é variável. Para a maior eficácia devem ser utilizados em concentrações próximas de 70% (v/v) em água: pode acontecer que concentrações mais altas ou mais baixas não tenham um poder germicida tão elevado. Uma vantagem importante das soluções aquosas de alcoóis é não deixar resíduos nos objectos tratados.

Misturas com outros agentes são mais eficazes do que unicamente álcool, por exemplo álcool a 70% (v/v) com 100 g/l de formaldeído, e álcool contendo 2 g/l de cloro activo. Uma solução aquosa a 70% (v/v) de etanol pode ser utilizada sobre a pele, em superfícies de trabalho e CSB, e como banho para pequenas peças de instrumentos cirúrgicos. Como o etanol pode secar a pele, é muitas vezes misturado com emolientes. Para a descontaminação de mãos pouco sujas em situações onde a lavagem destas é inconveniente ou impossível, recomenda-se esfregar as mãos com produtos à base de álcool. Contudo, não se deve esquecer que o etanol é ineficaz contra esporos e pode não matar todos os tipos de vírus não lipídicos.

Os alcoóis são voláteis e inflamáveis e não devem ser utilizados perto de chamas. As soluções de trabalho devem ser armazenadas em recipientes apropriados para evitar a evaporação dos alcoóis. Estes podem endurecer a borracha e dissolvem certos tipos de cola. É muito importante que o inventário e o armazenamento de etanol no laboratório sejam correctos, para evitar que seja utilizado para outros fins além de desinfecção. Botijas com soluções contendo álcool devem ser claramente etiquetadas para evitar a desinfecção em autoclave.

Iodo e iodoforos

A acção destes desinfectantes é semelhante à do cloro, embora possam ser ligeiramente menos restringidos por matéria orgânica. O iodo pode manchar tecidos e superfícies ambientais e não é geralmente indicado para utilização como desinfectante. Por outro lado, iodoforos e tinturas de iodo são bons anti-sépticos. O polividone de iodo é um produto de confiança e seguro para lavagem das mãos em cirurgia e um anti-séptico pré-operatório da pele. Anti-sépticos à base de iodo não estão geralmente indicados para uso em aparelhos médicos/dentários. O iodo não deve ser utilizado em alumínio ou cobre.

O iodo pode ser tóxico. Produtos orgânicos à base de iodo devem ser armazenados a 4–10°C para evitar o desenvolvimento de bactérias nocivas.

Peróxido de hidrogénio e perácidos

Tal como o cloro, o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e os perácidos são oxidantes fortes e podem ser potentes germicidas de largo campo de acção. Também são mais seguros para o homem e o meio ambiente.

O peróxido de hidrogénio é fornecido, quer como solução a 3% pronta a ser utilizada, quer como solução aquosa a 30% (água oxigenada) a diluir 5–10 vezes o seu volume com água esterilizada. Contudo, soluções a 3–6% de peróxido de hidrogénio unicamente são relativamente lentas e limitadas como germicidas. Os produtos agora disponíveis têm outros ingredientes para estabilizar o conteúdo de peróxido de hidrogénio, acelerar a sua acção germicida e torná-lo menos corrosivo.

O peróxido de hidrogénio pode ser utilizado para descontaminação de bancadas de trabalho em laboratórios e CSB, e soluções mais fortes podem estar indicadas para desinfectar aparelhos médicos/dentários sensíveis ao calor. A utilização de peróxido de hidrogénio ou ácido peracético (CH_3COOOH) em vaporização para descontaminar aparelhos médicos/dentários sensíveis ao calor exige equipamento especializado.

Peróxido de hidrogénio e perácidos podem ser corrosivos sobre metais tais como alumínio, cobre, latão e zinco, e também podem descolorar tecidos, cabelos, pele e membranas mucosas. Artigos tratados com estes produtos devem ser muito bem passados por água antes de contacto com olhos e membranas mucosas. Devem ser sempre armazenados longe de fontes de calor e protegidos da luz.

Descontaminação do meio ambiente local

A descontaminação do ar, mobiliário e equipamento de laboratório exige uma combinação de desinfectantes líquidos e gasosos. Para superfícies pode utilizar-se uma solução de hipocloreto de sódio (NaOCI); uma solução contendo 1 g/l de cloro activo pode estar indicada para a salubridade geral do meio ambiente, mas recomendam-se soluções mais fortes (5 g/l) para situações de grande risco. Para descontaminação do meio ambiente, soluções contendo 3% de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) são substitutos apropriados de soluções de lixívia.

As salas e o equipamento podem ser descontaminados por meio de fumigação com gás de formaldeído, quer aquecendo paraformaldeído, quer fervendo formol. Isto são processos muito perigosos que exigem pessoal especialmente treinado. Todas as aberturas da sala (janelas, portas, etc.) devem ser hermeticamente fechadas com fita colante ou outro meio semelhante antes de principiar a produção de gás. A fumigação deve ser realizada a uma temperatura ambiente de pelo menos 21°C e uma humidade relativa de 70%. (Ver também a secção sobre Descontaminação de CSB neste capítulo).

Depois da fumigação, a sala deve ser muito bem ventilada antes que seja permitida a entrada de pessoal. Qualquer pessoa que entre na sala antes desta ventilada deve usar máscara respiratória apropriada. Para neutralizar o formaldeído pode utilizar-se bicarbonato de amónio gasoso.

A fumigação de espaços mais pequenos com vapor de peróxido de hidrogénio é também eficaz mas necessita de equipamento especializado para gerar o vapor.

Descontaminação de câmaras de segurança biológica

Para descontaminar câmaras de Classe I e Classe II existe equipamento que, de maneira independente, gera, circula e neutraliza o gás de formaldeído. Como alternativa, a quantidade apropriada de paraformaldeído (concentração final de 0,8% de paraformaldeído no ar) pode ser colocada numa vasilha e posta a aquecer numa placa eléctrica. Outra vasilha contendo 10% mais de bicarbonato de amónio do que paraformaldeído é também colocada dentro da câmara numa segunda placa. As placas eléctricas são ligadas à corrente eléctrica fora da câmara para que a operação possa ser controlada do exterior, ligando e desligando as placas eléctricas segundo as necessidades. Se a humidade relativa é inferior a 70%, deve colocar-se dentro da câmara um recipiente aberto com água quente, antes do painel frontal ser selado com fita forte (por exemplo, fita de canalização). A abertura frontal e a saída do exaustor devem ser tapadas com uma folha de plástico muito resistente para impedir a saída do gás. As entradas de fios eléctricos no painel frontal também devem ser seladas com fita de canalização.

Liga-se a placa eléctrica da vasilha de paraformaldeído e desliga-se quando tudo se tiver evaporado. Durante pelo menos 6 horas não se mexe na câmara. Liga-se então a placa eléctrica da segunda vasilha, deixando-se evaporar todo o bicarbonato de amónio. Depois desliga-se a placa e liga-se o ventilador da câmara durante dois curtos períodos de 2 segundos cada para permitir a circulação do gás de bicarbonato de amónio. Não se mexe na câmara durante 30 minutos antes de remover as protecções do painel frontal e da saída do exaustor. As superfícies da câmara devem ser limpas para remover resíduos antes de ser utilizada.

Lavagem/descontaminação das mãos

Sempre que possível, devem utilizar-se luvas apropriadas para manipular materiais apresentando riscos biológicos. Contudo, isto não elimina a necessidade do pessoal de laboratório lavar as mãos regularmente e correctamente. As mãos devem ser lavadas depois de trabalhar com materiais apresentando riscos biológicos, animais e antes de sair do laboratório.

Na maioria dos casos, lavar bem as mãos com água e sabão é suficiente para as descontaminar, mas em situações de grande risco recomenda-se a utilização de sabões germicidas. As mãos devem ser completamente cobertas de espuma de sabão e esfregadas durante pelo menos 10 segundos, passadas por água limpa e secas utilizando um papel ou toalha limpos (no caso de existirem, deve utilizar-se secadores de mãos a ar quente).

Recomenda-se torneiras accionadas com o pé ou cotovelo. Não havendo, deve utilizar-se papel/toalha para fechar a torneira com o fim de evitar voltar a contaminar as mãos lavadas.

Tal como já mencionado, podem esfregar-se as mãos com produtos à base de álcool se estas estão ligeiramente sujas e não se dispõe de meios apropriados para as lavar.

Desinfecção e esterilização pelo calor

O calor é o agente físico mais vulgarmente utilizado para a descontaminação de agentes patogénicos. O calor « seco », que é totalmente não corrosivo, é utilizado para tratar muitos objectos de laboratório que podem suportar temperaturas de 160°C ou superiores durante 2–4 horas. Combustão ou incineração (ver mais adiante) é também uma forma de calor seco. O calor « húmido » é muito eficaz quando utilizado em autoclave.

A fervura não mata necessariamente todos os microrganismos e/ou agentes patogénicos, mas pode ser utilizada como tratamento mínimo para desinfecção quando outros métodos (desinfecção química ou descontaminação, desinfecção em autoclave) não forem aplicáveis ou não estiverem disponíveis.

Os artigos esterilizados devem ser manuseados e armazenados de forma a não se contaminarem até serem utilizados de novo.

Esterilização em autoclave

A esterilização por vapor saturado sob pressão (autoclave) é o meio mais eficaz e seguro de esterilizar materiais de laboratório. Na maior parte dos casos, os ciclos a seguir indicados assegurarão a esterilização de materiais correctamente carregados em autoclave:

1. Durante 3 minutos a 134°C
2. Durante 10 minutos a 126°C
3. Durante 15 minutos a 121°C
4. Durante 25 minutos a 115°C.

Exemplos de diversas autoclaves:

Autoclaves de deslocação da gravidade (a vapor directo). A Ilustração 10 mostra o plano geral de uma autoclave de deslocação de gravidade. O vapor entra na câmara sob pressão e desloca o ar mais pesado para baixo através da válvula no dreno da câmara equipado com um filtro HEPA.

Autoclaves de pré-vacuum. Estas máquinas permitem a extracção do ar da câmara antes da entrada do vapor. O ar extraído é evacuado através de uma válvula equipada com um filtro HEPA. No fim do ciclo, o vapor é automaticamente extraído. Estas autoclaves podem funcionar a 134°C e por isso o ciclo de esterilização pode ser reduzido a 3 minutos. São ideais para artigos porosos, mas não podem ser utilizadas para líquidos devido ao vácuo.

Autoclaves do tipo panela de pressão por aquecimento exterior. Estas autoclaves só devem ser utilizadas se não houver disponibilidade de autoclaves de deslocação de gravidade. São carregadas por cima e aquecidas a gás, electricidade ou outro tipo de combustível. O vapor é obtido aquecendo a água contida na base do aparelho, e o ar é deslocado para cima através de um tubo de escape. Uma vez todo o ar removido, a válvula do

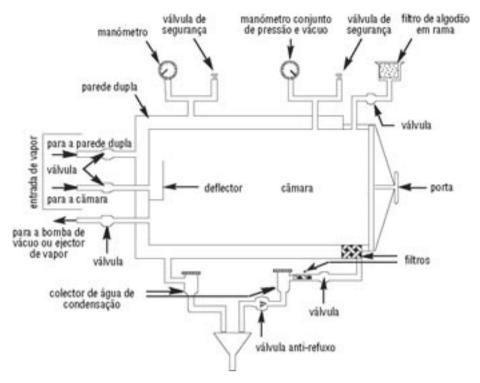



Ilustração 10. ***Autoclave de deslocação da gravidade***

tubo de escape é fechada e o calor reduzido. A pressão e a temperatura aumentam até que a válvula de segurança comece a funcionar a um nível pré-estabelecido. É a partir deste momento que se conta o tempo de espera. No fim do ciclo, desliga-se a fonte de calor e deixa-se a temperatura descer para 80°C ou menos, antes de abrir a tampa.

Carregamento de autoclaves

Os materiais a esterilizar não devem ficar muito juntos uns aos outros para facilitar a circulação do vapor e a remoção do ar. Os sacos devem estar abertos para que o vapor possa atingir o seu conteúdo.

Precauções na utilização de autoclaves

As regras apresentadas a seguir podem minimizar os perigos inerentes à utilização de aparelhos sob pressão.

1. A responsabilidade pela utilização e cuidados de rotina deve ser atribuída a pessoal devidamente formado.
2. Um programa de manutenção preventiva deve incluir inspecção regular, por pessoal qualificado, da câmara, juntas da porta e todas as válvulas e instrumentos de controlo.

3. O vapor deve estar saturado e sem produtos químicos (por exemplo, inibidores de corrosão) que possam contaminar os materiais a esterilizar.
4. Todos os materiais a esterilizar em autoclave devem estar dispostos em recipientes que permitam rápida remoção do ar e boa penetração do calor; a câmara não deve ficar demasiado carregada para que o vapor atinja bem toda a carga.
5. Se a autoclave não tiver um dispositivo de segurança que impeça a abertura da porta quando a câmara está sob pressão, é preciso que a principal válvula de vapor esteja fechada e que a temperatura baixe para menos de 80°C antes de abrir a porta.
6. É necessário utilizar um processo de evacuação lenta para esterilizar líquidos em autoclave pois estes podem transbordar ao ser retirados devido ao superaquecimento.
7. Os utilizadores da autoclave devem utilizar luvas e viseiras apropriadas como protecção para abrir a autoclave, mesmo quando a temperatura baixa para menos de 80°C.
8. Em qualquer controlo de rotina do funcionamento da autoclave, devem colocar-se no centro de cada carga indicadores biológicos ou termopares. É fortemente aconselhado o controlo regular com termopares e dispositivos de registo numa situação de « pior carga possível » para determinar ciclos de funcionamento correctos.
9. O filtro de esvaziamento da câmara (se existir) deve ser tirado e limpo todos os dias.
10. Deve ter-se o cuidado de assegurar que as válvulas de escape de autoclaves tipo panela de pressão não ficam obstruídas com papéis, etc. contidos na carga.

Incineração

A incineração é útil para eliminar carcassas de animais assim como outros resíduos de laboratório, com ou sem descontaminação prévia (ver Capítulo 3). A incineração de materiais infecciosos só é uma alternativa a esterilização em autoclave se o incinerador estiver sob controlo laboratorial.

Uma incineração correcta exige meios eficientes de controlo da temperatura e uma câmara de combustão secundária. Muitos incineradores, especialmente os que têm uma única câmara de combustão, são inadequados para tratar materiais infecciosos, carcassas de animais e plásticos. A destruição de tais materiais pode não ser completa e o efluente que sai da chaminé pode poluir a atmosfera com microrganismos, produtos químicos tóxicos e fumos. Contudo, existem muitas configurações satisfatórias para câmaras de combustão. O ideal é que a temperatura na câmara primária seja pelo menos de 800°C e na segunda pelo menos de 1000°C.

Mesmo se previamente descontaminados, os materiais para incineração devem ser transportados para o incinerador em sacos, de preferência de plástico. O pessoal encarregado do funcionamento do incinerador deve receber instruções apropriadas sobre o carregamento e o controlo da temperatura. Também é preciso notar que o

funcionamento eficiente de um incinerador depende imenso da mistura correcta de materiais nos resíduos a tratar.

Há actualmente uma certa inquietude sobre os possíveis efeitos negativos para o meio ambiente dos incineradores existentes ou em estudo, prosseguindo assim os esforços para produzir incineradores mais inócuos e mais eficientes em relação à energia.

Eliminação

A eliminação de resíduos médicos e de laboratório é regida por vários regulamentos regionais, nacionais e internacionais, cujas versões mais recentes devem ser consultadas antes de elaborar e implementar um programa de manuseamento, transporte e eliminação de resíduos apresentando riscos biológicos. Em geral, cinzas resultantes de incineração podem ser tratadas como resíduos domésticos normais e removidas pelas autoridades locais. Os resíduos de autoclaves podem ser eliminados num centro de incineração exterior ou em aterros sanitários autorizados (ver Capítulo 3).

Para mais informações ver referências (*13*) e (*29–39*).

15. Introdução ao transporte de substâncias infecciosas

O transporte de materiais infecciosos e potencialmente infecciosos está sujeito a severa regulamentação nacional e internacional. Tal regulamentação descreve a utilização apropriada de materiais de acondicionamento, assim como outros requisitos de expedição.

O pessoal de laboratório deve expedir as substâncias infecciosas segundo os regulamentos aplicáveis a transporte. A observância destes regulamentos:

1. Reduz a probabilidade das embalagens sofrerem danos e deixarem escapar algum conteúdo, o que leva a uma
2. Redução de exposições que resultem em infecções possíveis e
3. Melhor eficiência no transporte de embalagens.

Regulamentos internacionais sobre transportes

Os regulamentos sobre o transporte de materiais infecciosos (qualquer modo de transporte) baseiam-se nos *Regulamentos Modelo das Nações Unidas sobre Transporte de Mercadorias Perigosas* (*40*). Estas recomendações são elaboradas pela Comissão de Especialistas das Nações Unidas sobre o Transporte de Mercadorias Perigosas (UNCETDG). Para que se tornem legalmente obrigatórios, os *Regulamentos Modelo das Nações Unidas* devem ser introduzidos nos regulamentos nacionais e regulamentos modais internacionais pelas autoridades competentes (por exemplo, as *Instruções Técnicas para o Transporte Seguro de Mercadorias Perigosas por Via Aérea* (*41*) da Organização da Aviação Civil Internacional (OACI) para o transporte aéreo e o *Acordo Europeu sobre o Transporte Internacional de Mercadorias Perigosas por via Terrestre* (ADR) (*42*)).

A Associação do Transporte Aéreo Internacional (IATA) publica todos os anos *Directivas sobre Expedição de Substâncias Infecciosas* (*43*). As directivas da IATA devem conformar-se com as *Instruções Técnicas* da OACI, como padrão mínimo, mas podem impor outras restrições. As directivas da IATA são aplicáveis se a expedição for feita por um dos seus membros.

Dado que os *Regulamentos Modelo das Nações Unidas sobre Transporte de Mercadorias Perigosas* são um conjunto dinâmico de recomendações sujeitas a rectificações bienais, é necessário consultar as últimas emissões de regulamentos modais nacionais e internacionais para encontrar os textos reguladores aplicáveis.

A OMS tem um papel consultivo junto da UNCETDG. Na 13ª edição (2003) dos *Regulamentos Modelo das Nações Unidas* (*40*) foram introduzidas alterações importantes em relação ao transporte de substâncias infecciosas. Orientação sobre o contexto das correcções adoptadas pode ser obtida junto da OMS (*44*).

Os regulamentos modais internacionais não são destinados a suplantar requisitos locais ou nacionais. Contudo, em situações onde não existam requisitos nacionais, devem seguir-se os regulamentos modais internacionais.

É importante notar que o transporte internacional de substâncias infecciosas está também dependente e sujeito aos regulamentos nacionais de importação/exportação.

O sistema básico de embalagem tripla

Na Ilustração 13 dá-se um exemplo do sistema de embalagem tripla que é o método escolhido para o transporte de substâncias infecciosas e potencialmente infecciosas. Este sistema é composto por três elementos: o primeiro receptáculo, a embalagem secundária e a embalagem exterior.

O primeiro receptáculo contendo a amostra deve ser estanque e estar correctamente etiquetado de acordo com o conteúdo. Este receptáculo é embalado em material absorvente suficiente para absorver todo o líquido em caso de quebra ou derrame.

Para embrulhar e proteger o primeiro receptáculo ou receptáculos utiliza-se outra embalagem estanque. Nesta embalagem secundária podem colocar-se vários primeiros receptáculos embrulhados. Certos textos reguladores indicam os limites de volume e/ou peso para embalagens de substâncias infecciosas.

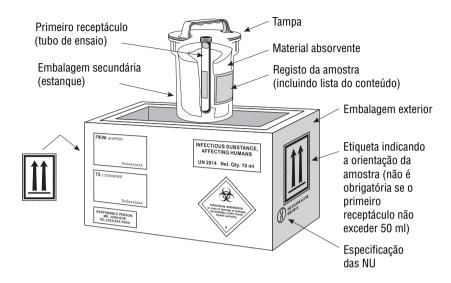
A terceira embalagem protege a segunda contra danos durante o transporte. Dados, cartas e outros tipos de informações identificando ou descrevendo a amostra e que identificam o expedidor e o destinatário, assim como qualquer outro documento exigido, também devem ser fornecidos de acordo com os regulamentos mais recentes.

Os *Regulamentos Modelo das Nações Unidas* determinam o uso de dois sistemas diferentes de embalagem tripla. O sistema básico de embalagem tripla aplica-se ao transporte de várias substâncias infecciosas; contudo, organismos de alto risco devem ser expedidos de acordo com exigências mais rigorosas. Para mais detalhes sobre a utilização de diferentes embalagens segundo os materiais a transportar, é aconselhável consultar os regulamentos nacionais e/ou internacionais para acesso aos textos reguladores aplicáveis.

Processo de limpeza de derrames

No caso de derrame de material infeccioso ou potencialmente infeccioso, deve utilizar-se o seguinte processo de limpeza:

1. Utilizar luvas e vestuário protector, incluindo, se necessário, protecção para a face e os olhos.
2. Para não deixar espalhar, cobrir o derrame com toalhas de papel ou de pano.

Embalagem e etiquetagem de substâncias infecciosas de Categoria A

Embalagem e etiquetagem de substâncias infecciosas de Categoria B

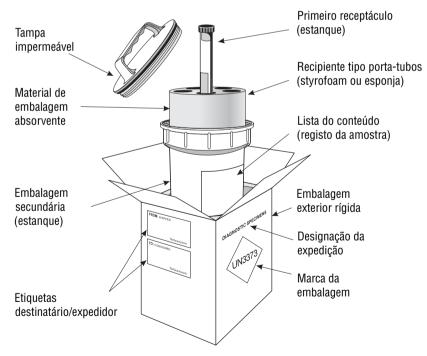



Ilustração 11. ***Exemplos de sistemas básicos de embalagem tripla***
(gráficos gentilmente fornecidos por CUH2A, Princeton, NJ, EUA)

3. Deitar um desinfectante apropriado sobre as toalhas de papel e a área imediatamente circundante (geralmente, estão indicadas soluções de lixívia a 5%; mas para derrames em aeronaves devem utilizar-se desinfectantes de amónio quaternário).
4. Aplicar o desinfectante de uma forma concêntrica, principiando pelo exterior da área do derrame e avançando para o centro.
5. Depois do período de tempo apropriado (por exemplo, 30 minutos), retirar os materiais. No caso de haver vidro partido ou outros objectos cortantes, utilizar um apanhador ou um pedaço de cartão rígido para recolher o material e colocá-lo num recipiente resistente para eliminação.
6. Limpar e desinfectar a área do derrame (se necessário, repetir os passos 2–5).
7. Descartar os materiais contaminados para um recipiente estanque e imperfurável de eliminação de resíduos.
8. Uma vez terminada a desinfecção, informar as autoridades competentes de que o sítio foi descontaminado.

PARTE V

Introdução a biotecnologias

16. Segurança biológica e tecnologia de recombinação de ADN

A tecnologia de recombinação de ADN implica combinar material genético de diferentes fontes criando assim organismos geneticamente modificados (OGM) que podem nunca ter existido antes. Inicialmente, os biologistas moleculares preocuparam-se com a possibilidade de tais organismos terem propriedades imprevisíveis e indesejáveis podendo, no caso de escaparem do laboratório, representar um risco biológico. Tal preocupação foi o centro de uma conferência científica realizada em Asilomar, CA, EUA em 1975 (45), durante a qual foram discutidas questões de segurança e propostas as primeiras directivas para a tecnologia de recombinação de ADN. Os 25 anos seguintes de investigação experimental demonstraram que a engenharia genética pode ser realizada de maneira segura quando se faz uma avaliação apropriada do risco e se tomam medidas de segurança adequadas.

A tecnologia de recombinação de ADN ou engenharia genética foi utilizada pela primeira vez para clonar segmentos de ADN em hospedeiros bacterianos a fim de pôr em relevo produtos de genes específicos para estudos mais aprofundados. Moléculas de tecnologia de recombinação de ADN também têm sido utilizadas para criar OGM tais como animais transgénicos e « knock-out » (animais em que certos genes são inactivados ou suprimidos) e plantas transgénicas.

A tecnologia de recombinação de ADN já teve um enorme impacto na biologia e na medicina, e provavelmente terá uma influência ainda maior agora que a sequência nucleótida de todo o genoma humano está disponível. Dezenas de milhares de genes de funções ainda não conhecidas serão estudados utilizando tal tecnologia. A terapia genética poderá tornar-se um tratamento de rotina para certas doenças, e é provável que utilizando a engenharia genética se possam inventar novos vectores para transferência de genes. Plantas transgénicas produzidas por tecnologia de recombinação de ADN também podem desempenhar um papel cada vez mais importante na agricultura moderna.

Experiências implicando a criação ou utilização de OGM devem ser realizadas depois de uma avaliação do risco de segurança biológica. As propriedades patogénicas e quaisquer riscos associados a tais organismos podem ser inusitados e não estar bem caracterizados. As propriedades do organismo doador, a natureza das sequências ADN que serão transferidas, as propriedades do organismo receptor, e as propriedades do ambiente devem ser avaliadas. Estes factores devem ajudar a determinar o nível de segurança biológica exigido para a manipulação segura do OGM

resultante, e a identificar os sistemas de confinamento biológico e físico que devem ser utilizados.

Considerações de segurança biológica para sistemas de expressão biológica

Os sistemas de expressão biológica consistem em vectores e células hospedeiras. Para que a sua utilização seja eficaz e segura é preciso que um certo número de critérios sejam respeitados. Um exemplo de um tal sistema de expressão biológica é o plasmídeo pUC18. A sequência do plasmídeo pUC18, frequentemente utilizado como um vector de clonagem em combinação com células K12 de *Escherichia coli*, foi inteiramente estabelecida. Todos os genes necessários para expressão em outras bactérias foram removidos do seu precursor o plasmídeo pBR322. A *E. coli* K12 é uma estirpe não patogénica que não pode colonizar permanentemente os intestinos de seres humanos ou animais saudáveis. Experiências de rotina de engenharia genética podem ser realizadas com segurança em *E. coli* K12/pUC18 ao Nível 1 de segurança biológica, desde que os produtos de expressão de ADN estranha introduzida não exijam níveis superiores de segurança biológica.

Considerações de segurança biológica para vectores de expressão

Pode haver necessidade de níveis de seguranca biológica superiores quando:

1. A expressão de sequências de ADN derivadas de organismos patogénicos pode aumentar a virulência do OGM
2. As sequências de ADN introduzidas não estão bem caracterizadas, por exemplo durante a preparação de bibliotecas de ADN de genomas de microrganismos patogénicos
3. Produtos de genes podem ter actividade farmacológica
4. Produtos genéticos codificam por toxinas.

Vectores virais para transferência de genes

Para transferir genes para outras células utilizam-se vectores virais, por exemplo, vectores adenovírus. Tais vectores não têm certos genes de replicação de vírus e são propagados em linhas celulares que complementam a falha.

Reservas de tais vectores podem ser contaminadas com vírus capazes de replicação, gerados por acontecimentos raros de recombinação espontânea nas linhas celulares de propagação, ou que possam derivar de uma purificação insuficiente. Tais vectores devem ser manipulados ao mesmo nível de segurança biológica que os adenovírus dos quais derivam.

Animais transgénicos e « knock-out »

Os animais portadores de material genético estrangeiro (animais transgénicos) devem ser manipulados a níveis de confinamento apropriados às características dos produtos dos genes estrangeiros. Animais a quem foram suprimidos determinados genes

específicos (animais « knock-out ») não apresentam geralmente riscos biológicos particulares.

Exemplos de animais transgénicos incluem animais que apresentam receptores de vírus normalmente incapazes de infectar tais espécies. Se tais animais escaparem dum laboratório e transmitirem o gene transgénico aos seus congéneres selvagens, é teoricamente possível que se constitua no seio de tal população animal um reservatório para esse dado vírus.

Esta possibilidade tem sido discutida em relação a poliovírus e é especialmente pertinente no contexto da erradicação da poliomielite. Ratos transgénicos que apresentavam o receptor do poliovírus humano gerados em diferentes laboratórios eram susceptíveis a infecção por poliovírus por várias vias de inoculação e a doença resultante era do ponto de vista clínico e histopatológico semelhante à poliomielite humana. Contudo, o rato difere do ser humano na medida em que a replicação no trato digestivo de poliovírus administrados por via oral é ineficiente ou não tem lugar. Assim, é muito pouco provável que a fuga de tais ratos transgénicos para a natureza possa resultar no estabelecimento de um novo reservatório animal de poliovírus. Contudo, este exemplo indica que, para cada nova linha de animais transgénicos, devem realizar-se estudos detalhados para determinar as vias de infecção dos animais, a quantidade do material inoculado necessário para provocar infecção, e a amplitude da propagação do vírus pelos animais infectados. Além disso, devem tomar-se todas as medidas para assegurar o confinamento rigoroso de ratos transgénicos receptores.

Plantas transgénicas

Plantas transgénicas exprimindo genes que conferem tolerância a herbicidas ou resistência a insectos geram actualmente uma grande controvérsia em muitas partes do mundo. As discussões concentram-se sobre a inocuidade alimentar de tais plantas, e as consequências ecológicas a longo prazo do seu cultivo.

Plantas transgénicas exprimindo genes de origem animal ou humana são utilizadas para desenvolver produtos medicinais e nutricionais. Uma avaliação do risco deve determinar o nível adequado de segurança biológica para a produção de tais plantas.

Avaliações de risco para organismos geneticamente modificados

As avaliações de risco para trabalhar com OGM devem entrar em linha de conta com as características dos organismos doadores e dos receptores/hospedeiros.

Exemplos de características a considerar incluem os seguintes.

Riscos directamente resultantes do gene introduzido (organismo doador)

Em situações em que o produto do gene introduzido tem propriedades biológicas ou farmacológicas activas conhecidas podendo originar perigo é necessário uma avaliação, por exemplo:

1. Toxinas
2. Citocinas

3. Hormonas
4. Reguladores de expressão de genes
5. Factores ou reforçadores de virulência
6. Sequências de genes oncogénicos
7. Resistência a antibióticos
8. Alérgenos.

A consideração de tais casos deve incluir uma estimativa do nível de expressão necessário para atingir actividade biológica ou farmacológica.

Riscos associados ao receptor/hospedeiro

1. Susceptibilidade do hospedeiro
2. Patogenicidade da estirpe hospedeira, incluindo virulência, infectividade e produção de toxinas
3. Modificação da gama de hospedeiros
4. Estado de imunidade do recipiente
5. Consequências da exposição.

Riscos resultantes da alteração das características patogénicas existentes

Muitas modificações não implicam genes cujos produtos são inerentemente perigosos, mas podem surgir efeitos secundários devido a alteração de características patogénicas ou não patogénicas existentes. A modificação dos genes normais pode alterar a patogenicidade. Numa tentativa para identificar estes riscos potenciais, podem ser considerados os seguintes pontos (a lista não é exaustiva).

1. Há um aumento da infectividade ou patogenicidade?
2. Uma qualquer mutação incapacitante no recipiente pode ser superada como resultado da inserção do gene estrangeiro?
3. O gene estrangeiro codifica uma determinante de patogenicidade de outro organismo?
4. Se a ADN estrangeira inclui uma determinante de patogenicidade, é de prever que este gene possa contribuir para a patogenicidade do OGM?
5. Há disponibilidade de tratamento?
6. A susceptibilidade dos OGM a antibióticos ou outra forma de terapia será afectada como consequência da modificação genética?
7. A erradicação dos OGM é possível?

Outras considerações

A utilização de animais ou plantas na sua integridade para fins de experimentação também exige uma análise cuidadosa. Os investigadores devem acatar os regulamentos, restrições e exigências para a realização de trabalhos com OGM nos países e instituições que os acolhem.

Os países podem ter autoridades nacionais que estabelecem directivas para trabalhar com OGM, e podem ajudar os cientistas a classificar o seu trabalho ao nível apropriado de segurança biológica. Em certos casos, a classificação pode divergir entre países, ou o país pode decidir classificar o trabalho a um nível inferior ou superior quando surgem novas informações sobre um sistema determinado de vector/hospedeiro.

A avaliação de riscos é um processo dinâmico que toma em consideração novos desenvolvimentos e o progresso da ciência. A realização de avaliações de risco correctas assegurará que os benefícios da tecnologia de recombinação de ADN continuarão à disposição da humanidade nos anos futuros.

Para mais informações ver referências (*17*) e (*46–48*).

PARTE VI

Segurança em relação a produtos químicos, incêndio e electricidade

17. Produtos químicos perigosos

O pessoal de laboratórios de microbiologia está não só exposto a microrganismos patogénicos como a produtos químicos perigosos. Assim, é importante que conheça bem os efeitos tóxicos de tais produtos, as vias de exposição e os riscos que possam estar associados à sua manipulação e armazenagem (ver Anexo 5). Os fabricantes e/ou fornecedores de produtos químicos fornecem folhas de dados sobre a segurança do material ou outras informações sobre riscos químicos. Tais folhas devem estar disponíveis em laboratórios onde estes produtos químicos são utilizados, por exemplo, como parte de um manual de segurança ou de operações.

Vias de exposição

A exposição a produtos químicos pode ocorrer por:

1. Inalação
2. Contacto
3. Ingestão
4. Picadas de agulhas
5. Cortes na pele.

Armazenagem de produtos químicos

No laboratório só devem ser armazenadas as quantidades de produtos químicos necessárias para uso diário. Os stocks devem ser armazenados em salas ou edifícios especialmente destinados para tal fim.

Os produtos químicos não devem ser armazenados em ordem alfabética.

Regras gerais relativas a incompatibilidades químicas

Para evitar incêndios e/ou explosões, as substâncias mencionadas na coluna da esquerda do Quadro 13 devem ser armazenadas e manipuladas de maneira a não entrarem em contacto com as substâncias da coluna da direita.

Efeitos tóxicos dos produtos químicos

Certos produtos químicos são nocivos para a saúde das pessoas que os manipulam ou que inalam os seus vapores. Além dos venenos notórios, um certo número de produtos químicos são conhecidos como tendo vários efeitos tóxicos. O sistema respiratório,

Quadro 13. ***Regras gerais sobre incompatibilidades químicas***

CATEGORIA DA SUBSTÂNCIA	SUBSTÂNCIAS INCOMPATÍVEIS
Metais alcalinos como sódio, potássio, césio e lítio	Dióxido de carbono, hidrocarbonetos clorados, água
Halogéneos	Amoníaco, acetileno, hidrocarbonetos
Ácido acético, sulfito de hidrogénio, anilina, hidrocarbonetos, ácido sulfúrico	Agentes oxidantes como ácido crómico, ácido nítrico, peroxidos, permanganatos

o sangue, os pulmões, o fígado, os rins e o sistema gastrintestinal, assim como outros órgãos e tecidos, podem ser afectados ou gravemente danificados. Certos produtos químicos têm propriedades cancerígenas ou teratogénicas conhecidas.

Certos vapores de solventes são tóxicos quando inalados. Além dos efeitos mais graves acima assinalados, a exposição pode provocar danos que não mostram efeitos imediatos na saúde, mas que podem incluir perda da coordenação, sonolência e sintomas semelhantes, o que aumenta o risco de acidentes.

A exposição prolongada ou repetida à fase líquida de muitos dissolventes orgânicos pode resultar em lesões cutâneas o que pode ser devido a um efeito de dissolução das gorduras, mas também pode provocar sintomas alérgicos e corrosivos.

Para informações detalhadas sobre os efeitos tóxicos dos produtos químicos ver o Anexo 5.

Produtos químicos explosivos

A azida, muitas vezes utilizada em soluções antibacterianas, não deve entrar em contacto com o cobre ou o chumbo (por exemplo, em canalizações) pois estas podem explodir violentamente quando sujeitas mesmo a um impacto ligeiro.

Os éteres que envelheceram e secaram em cristais são extremamente instáveis e potencialmente explosivos.

O ácido perclórico quando seca sobre madeira, tijolo ou tecido, explode e inflama-se sob o efeito de um impacto.

O ácido pícrico e os picratos explodem sob o efeito do calor e de choques.

Derrames de produtos químicos

A maior parte dos fabricantes de produtos químicos utilizados em laboratório fornecem instruções sobre a maneira de proceder em caso de derrame. Instruções e material a utilizar em tais casos também se encontram no comércio. Nos laboratórios, estas instruções devem ser colocadas bem à vista. Deve igualmente estar disponível o seguinte material:

1. Conjuntos de material para derrames
2. Roupa de protecção, como por exemplo, luvas de borracha espessa, protecções de sapatos ou botas de borracha, respiradores
3. Pás e apanhadores
4. Pinças para apanhar estilhaços de vidro

5. Esfregões, panos e papel absorvente
6. Baldes
7. Soda calcinada (carbonato de sódio, Na_2CO_3) ou bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) para neutralizar ácidos e produtos químicos corrosivos
8. Areia (para cobrir derrames alcalinos)
9. Detergente não inflamável.

No caso de derrame importante de produtos químicos, proceder da seguinte maneira:

1. Notificar o responsável da segurança.
2. Evacuar da zona o pessoal não essencial.
3. Prestar cuidados às pessoas que possam ter sido contaminadas.
4. Se o material derramado é inflamável, apagar todas as chamas vivas, desligar o gás na sala e nas zonas vizinhas, abrir as janelas (se possível), e desligar da corrente o equipamento eléctrico que possa produzir faíscas.
5. Evitar de respirar os vapores produzidos pelo material derramado.
6. Ligar o exaustor se tal operação não representar perigo.
7. Arranjar o material necessário para limpar o derrame (ver mais acima).

Gases comprimidos e liquefeitos

O Quadro 14 fornece informações sobre a armazenagem de gases comprimidos e liquefeitos.

Quadro 14. ***Armazenagem de gases comprimidos e liquefeitos***

RECIPIENTES	INFORMAÇÕES SOBRE ARMAZENAGEM E MANUSEAMENTO
Cilindros de gás comprimido e recipientes de gás liquefeito[a,b]	• Devem ser solidamente presos (por exemplo, com uma corrente) à parede ou a uma estrutura sólida para que não possam ser deslocados inadvertidamente • Devem ser transportados numa carreta com rodas, bem tapados com as tampas protectoras. • Devem ser armazenados em conjunto num outro edifício a certa distância do laboratório. Essa zona deve ser fechada à chave e devidamente identificada. • Não devem ser colocados perto de radiadores, chamas vivas ou outras fontes de calor, equipamento eléctrico que produza faíscas ou directamente expostos ao sol.
Pequenas botijas de gás de uso único[a,b]	• Não devem ser incineradas.

[a] A principal válvula de alta pressão deve ser fechada quando o equipamento não está a ser utilizado e quando a sala não está ocupada.
[b] As salas onde se utilizam e/ou se armazenam cilindros de gás inflamável devem estar devidamente assinaladas com avisos nas portas.

Para mais informações ver referências (*1*) e (*49–51*), e Anexo 5.

18. Outros tipos de risco em laboratório

O pessoal de laboratório pode ser exposto a riscos ligados a certas formas de energia e nomeadamente a fogo, electricidade, radiações e barulho. Neste capítulo apresentam-se informações básicas sobre cada um deles.

Risco de incêndio

Uma colaboração estreita entre os responsáveis da segurança e os responsáveis locais da prevenção de incêndios é essencial. Além dos riscos de natureza química, deve levar-se em conta os efeitos de um incêndio numa disseminação eventual de material infeccioso. Isto pode determinar se é preferível extinguir o incêndio ou circunscrevê-lo.

É desejável pedir a colaboração de responsáveis locais da prevenção de incêndios para formar o pessoal de laboratório em prevenção e acção imediata em caso de incêndio, e utilização de material de luta contra incêndios.

Cartazes com instruções sobre a maneira de proceder em caso de incêndio e que indiquem as saídas de socorro devem estar bem visíveis nas salas, corredores e vestíbulos.

As causas mais correntes de incêndio em laboratório são:

1. Circuito eléctrico sobrecarregado
2. Má manutenção do sistema eléctrico, por exemplo, isolação dos cabos defeituosa ou em mau estado
3. Tubos de gás ou fios eléctricos demasiado longos
4. Equipamento deixado ligado desnecessariamente
5. Equipamento que não foi concebido para trabalho em laboratório
6. Chamas vivas
7. Tubos de gás deteriorados
8. Erros na manipulação e armazenagem de materiais inflamáveis ou explosivos
9. Erros na separação de produtos químicos incompatíveis
10. Aparelhos que produzem faíscas na proximidade de substâncias ou vapores inflamáveis
11. Ventilação mal adaptada ou insuficiente.

O material de combate a incêndios deve ser colocado perto das portas das salas e em pontos estratégicos de corredores e vestíbulos. Tal material deve incluir mangueiras, baldes (de água ou areia) e extintores. Os extintores devem ser objecto de inspecção

Quadro 15. ***Tipos de extintores e sua utilização***

TIPO	UTILIZADO PARA	NÃO UTILIZADO PARA
Água	Papel, madeira, tecido	Fogos de origem eléctrica, líquidos inflamáveis, metais incandescentes
Gases extintores de dióxido de carbono (CO_2)	Líquidos e gases inflamáveis, fogos de origem eléctrica	Metais alcalinos, papel
Pó	Líquidos e gases inflamáveis, metais alcalinos, fogos de origem eléctrica	Material e instrumentos reutilizáveis pois os resíduos são muito difíceis de eliminar
Espuma	Líquidos inflamáveis	Fogos de origem eléctrica

e manutenção periódicas e devem estar dentro do prazo de validade. O Quadro 15 apresenta diversos tipos de extintores e sua utilização.

Para mais informações, ver a referência (*49*).

Riscos eléctricos

É essencial que todas as instalações e equipamentos eléctricos sejam verificados e controlados regularmente, incluindo os sistemas de ligação à terra.

Disjuntores e interruptores diferenciais devem ser instalados nos circuitos eléctricos de laboratório. Os disjuntores não protegem as pessoas; destinam-se a proteger os circuitos de uma sobrecarga eléctrica e assim evitar incêndios. Os interruptores diferenciais protegem as pessoas de choques eléctricos.

Todos os aparelhos eléctricos de laboratório devem estar ligados à terra, de preferência com tomadas tripolares.

Todos os aparelhos e circuitos eléctricos de laboratório devem ser conformes aos padrões e normas nacionais de segurança eléctrica.

Ruído

Os efeitos de uma exposição a ruído excessivo são, com o decorrer do tempo, insidiosos. Alguns aparelhos de laboratório, como por exemplo, certos sistemas de laser, assim como instalações para animais, podem expor os trabalhadores a um ruído considerável. Para determinar o risco de exposição a ruído podem fazer-se medições acústicas. Quando justificado pelos dados obtidos, podem tomar-se certas medidas, como a colocação de vedações ou barreiras anti-ruído à volta do equipamento ruidoso ou entre as zonas ruidosas e outras zonas de trabalho. Quando não é possível baixar o nível de ruído e o pessoal de laboratório está permanentemente exposto a um ruído excessivo, deve ser instituído um programa de protecção auditiva incluindo a utilização de protectores auriculares para os trabalhos em ambiente ruidoso e um controlo médico para determinar o efeito do ruído sobre o pessoal.

Radiações ionizantes

A radioprotecção tem por objectivo proteger os seres humanos contra os efeitos nocivos das radiações ionizantes, nomeadamente:

1. Efeitos somáticos, por exemplo, sintomas clínicos observáveis em indivíduos expostos. Tais efeitos incluem cancros induzidos por radiações como leucemias ou cancro dos ossos, dos pulmões e da pele, que podem só aparecer muitos anos depois da irradiação. Outros efeitos menos graves incluem lesões cutâneas, perda de cabelo, deficiências sanguíneas, lesões gastrintestinais e cataratas.
2. Efeitos hereditários, por exemplo, sintomas observados em descendentes de indivíduos expostos. Os efeitos hereditários da exposição das gónadas a radiações incluem dano nos cromossomas ou mutação genética. A irradiação em fortes doses das células germinativas nas gónadas também pode causar a morte celular, provocando problemas de fertilidade nos dois sexos ou alterações menstruais na mulher. A exposição do feto durante o seu desenvolvimento, em especial entre a 8ª e a 15ª semana de gravidez, pode aumentar o risco de malformações congénitas, atraso mental ou cancros induzidos por irradiação, anos mais tarde.

Princípios de radioprotecção contra a irradiação ionizante

Para limitar os efeitos nocivos da irradiação ionizante, é preciso que a utilização de radioisótopos seja controlada e respeite as normas nacionais pertinentes. A radioprotecção apoia-se em quatro princípios:

1. Reduzir ao mínimo o tempo de exposição a radiações
2. Manter-se o mais longe possível da fonte de irradiação
3. Blindar a fonte de irradiação
4. Substituir a utilização de radionúclidos por técnicas não radiométricas.

As actividades de protecção incluem:

1. *Tempo*. O tempo de exposição durante as manipulações de material radioactivo pode ser reduzido:
   — Exercitando-se em técnicas novas e não familiares sem utilizar radionúclidos até estar perfeitamente apto
   — Trabalhando com radionúclidos no momento oportuno, de maneira segura e sem precipitações
   — Assegurando-se que todas as fontes radioactivas voltam imediatamente para o seu local de armazenagem depois de utilizadas
   — Eliminando frequentemente do laboratório os resíduos radioactivos
   — Passando o menos tempo possível na zona de irradiação do laboratório
   — Procurando gerir e planear eficazmente as manipulações em laboratório de substâncias radioactivas e a sua duração.

   Quanto menos tempo se passar no campo de irradiação, mais fraca é a dose recebida individualmente, como demonstra a seguinte equação:

$$\textbf{Dose} = \textbf{Taxa de dosagem} \times \textbf{tempo}$$

2. *Distância*. A taxa de dosagem para a maior parte das radiações γ ou X varia como o inverso do quadrado da distância a uma fonte de ponta:

$$\textbf{Taxa de dosagem} = \textbf{Constante} \times 1/\textbf{distância}^2$$

   Multiplicando por 2 a distância a uma fonte de radiação resultará numa exposição reduzida a um quarto durante o mesmo período de tempo. Para aumentar tal distância utilizam-se vários dispositivos e mecanismos, por exemplo, pinças com cabos compridos, tenazes, ganchos e auxiliares de pipetar à distância. Não esquecer que um pequeno aumento da distância pode resultar numa redução importante da taxa de dosagem.

3. *Blindagem*. Colocar entre a fonte e o operador ou outros ocupantes do laboratório protecções capazes de absorver ou de atenuar a energia irradiada ajudará a limitar a exposição. A escolha de qualquer protecção e da sua espessura depende da capacidade de penetração da radiação (tipo e energia). Barreiras em resina acrílica, madeira ou metal ligeiro, de uma espessura de 1,3 a 1,5 cm, protegem contra partículas β de grande energia, mas para proteger contra a irradiação γ e X de alta energia é preciso utilizar barreiras de chumbo de densidade elevada.

4. *Substituição*. Não se devem utilizar radionúclidos quando existem outras técnicas. Se a substituição não é possível, deve utilizar-se o radionúclido cuja radiação seja a menos penetrante ou a menos energética possível.

Regras de segurança para trabalhar com radionúclidos

As regras para trabalhar com substâncias radioactivas devem incluir considerações em quatro áreas:

1. Área de irradiação
2. Área de trabalho
3. Área de resíduos radioactivos
4. Registos e resposta em casos de emergência.

Algumas das regras mais importantes incluem:

1. *Área de irradiação*
   — Utilizar substâncias radioactivas unicamente em áreas especialmente destinadas a tal efeito.
   — Só permitir a presença do pessoal indispensável.
   — Utilizar equipamento de protecção individual, incluindo batas, óculos de protecção e luvas descartáveis.
   — Utilizar um dosímetro pessoal para controlo da exposição a irradiações.

   Os laboratórios onde se manipulam radionúclidos devem ser concebidos de maneira a simplificar a contenção, a limpeza e a descontaminação. A área de tra-

Ilustração 12. ***Símbolo internacional de risco de irradiação***

balho com radionúclidos deve ser localizada numa sala pequena contígua ao laboratório principal ou numa zona exclusiva dentro do laboratório afastada das outras zonas de actividade. Na entrada da área de irradiação devem ser colocados painéis com o símbolo internacional de risco de irradiação (Ilustração 12).

2. *Área de trabalho*
   — Utilizar tabuleiros com materiais absorventes descartáveis para recolha de derrames.
   — Limitar as quantidades de radionúclidos utilizados.
   — Colocar protecções à volta das fontes de irradiação, das áreas de trabalho e de resíduos radioactivos.
   — Marcar nos recipientes de produtos radioactivos o símbolo de radioactividade, e indicar igualmente a identidade do radionúclido, a sua actividade e a data da experiência.
   — Utilizar radiómetros para controlar zonas de trabalho, roupa de protecção e mãos, uma vez o trabalho terminado.
   — Utilizar contentores de transporte correctamente blindados.

3. *Área de resíduos radioactivos*
   — Eliminar frequentemente da área de trabalho os resíduos radioactivos.

4. *Registos e resposta em casos de emergência*
   — Manter registos precisos sobre a utilização e eliminação de materiais radioactivos.
   — Verificar os registos de dosímetros para detectar qualquer produto que tenha eventualmente excedido a dose limite.
   — Estabelecer e experimentar regularmente planos de acção para situações de emergência.
   — Em caso de emergência, ocupar-se em primeiro lugar dos feridos.
   — Limpar muito bem as zonas contaminadas.
   — Se disponível, pedir auxílio ao serviço de segurança.
   — Fazer relatórios dos casos de incidente e conservá-los nos arquivos.

PARTE VII

Segurança: organização e formação

19. Responsável da segurança biológica e comissão de segurança biológica

É indispensável que todos os laboratórios tenham uma política de segurança global, um manual de segurança e programas para a sua implementação. A responsabilidade pertence normalmente ao director ou ao chefe do instituto ou laboratório, o qual poderá delegar certas tarefas no responsável da segurança ou noutros membros competentes do pessoal.

A segurança em laboratório é igualmente da responsabilidade de todos os supervisores e empregados, e cada trabalhador é responsável pela sua própria segurança e pela segurança dos seus colegas. Espera-se que os empregados desempenhem o seu trabalho segundo as regras de segurança e que comuniquem ao seu supervisor qualquer acto, condição ou incidente que comportem riscos.

Seria desejável mandar executar por agentes externos ou internos inspecções periódicas das condições de segurança.

Responsável da segurança biológica

Sempre que possível, deve nomear-se um responsável de segurança biológica encarregado de assegurar que as políticas e programas de segurança biológica são respeitados sistematicamente em todo o laboratório. Este responsável executa estas tarefas em nome do director do instituto ou laboratório. Em unidades pequenas, o responsável da segurança biológica pode ser um microbiologista ou um membro do pessoal técnico que poderá desempenhar tais tarefas numa base determinada a tempo parcial. Seja qual for o grau de participação na segurança biológica, a pessoa designada deve possuir a competência profissional necessária para sugerir, examinar e aprovar actividades específicas que respeitem procedimentos apropriados de contenção e segurança biológicas. O responsável da segurança biológica deve aplicar as regras, regulamentos e directivas nacionais e internacionais pertinentes, assim como ajudar o laboratório a elaborar normas de trabalho padrão. Esta pessoa deve ter uma formação técnica em microbiologia e bioquímica com conhecimentos básicos em ciências físicas e biologia. O conhecimento de práticas laboratoriais, clínicas e de segurança, incluindo material de contenção e princípios técnicos relacionados com a concepção, o funcionamento e a manutenção dos serviços, é muito desejável. O responsável da segurança biológica também deve ser capaz de comunicar eficazmente com o pessoal administrativo, técnico e auxiliar.

O responsável da segurança biológica deve:

1. Participar em reuniões técnicas sobre segurança biológica, protecção biológica e observância de técnicas.
2. Organizar auditorias periódicas internas de segurança biológica sobre métodos técnicos, práticas e protocolos, agentes biológicos, materiais e equipamento.
3. Examinar com as pessoas implicadas as violações de protocolos ou procedimentos de segurança biológica.
4. Verificar se todo o pessoal recebeu formação apropriada em questões de segurança biológica.
5. Assegurar formação contínua em segurança biológica.
6. Investigar incidentes que impliquem a fuga eventual de material potencialmente infeccioso ou tóxico, e notificar as conclusões e recomendações ao director do laboratório e à comissão de segurança biológica.
7. Cooperar com o pessoal médico em relação a eventuais infecções adquiridas em laboratório.
8. Assegurar a descontaminação apropriada após derrames ou outros incidentes que impliquem material infeccioso.
9. Assegurar o processamento apropriado dos resíduos.
10. Assegurar a descontaminação apropriada de qualquer aparelho antes de uma reparação ou um controlo.
11. Informar-se sobre as atitudes da comunidade em relação a questões de saúde e meio ambiente.
12. Estabelecer medidas apropriadas para a entrada/saída de material patogénico, de acordo com os regulamentos nacionais.
13. Analisar os aspectos de segurança biológica de todos os planos, protocolos e procedimentos operacionais do trabalho de investigação que envolvem agentes infecciosos, antes da implementação de tais actividades.
14. Estabelecer um sistema para enfrentar emergências.

Comissão de segurança biológica

É conveniente constituir uma comissão de segurança biológica para elaborar políticas de segurança biológica e códigos de procedimento. Esta comissão também deve examinar os protocolos de investigação para trabalhos que envolvam agentes infecciosos, utilização de animais, técnicas de recombinação da ADN e organismos geneticamente modificados. Outras funções da comissão podem incluir avaliações de risco, elaboração de novas políticas de segurança e arbitragem em conflitos sobre questões de segurança.

A composição da comissão de segurança biológica deve ser representativa dos diversos ramos profissionais da organização assim como das suas especialidades científicas. A composição de uma comissão básica de segurança biológica pode incluir:

1. Um ou mais responsáveis de segurança
2. Cientistas

3. Pessoal médico
4. Um ou mais veterinários (no caso de experimentações com animais)
5. Representantes do pessoal técnico
6. Representantes da direcção do laboratório.

A comissão de segurança biológica deve consultar os responsáveis de segurança dos diversos serviços e especialidades (por exemplo, especialistas em radioprotecção, segurança industrial, prevenção contra incêndios, etc.) e pode eventualmente pedir assistência a especialistas independentes em vários domínios afins, bem como a autoridades locais e organismos nacionais reguladores. No caso de um protocolo particularmente litigioso ou sensível, pode ser igualmente útil procurar o conselho de membros da comunidade.

20. Segurança do pessoal auxiliar

O bom funcionamento e a segurança de um laboratório dependem muito do pessoal de manutenção e de limpeza, e é essencial que tal pessoal receba formação adequada sobre segurança.

Serviços de manutenção de aparelhos e instalações

Os engenheiros e os operários qualificados responsáveis pela manutenção e reparação das instalações e equipamento, devem ter certos conhecimentos sobre a natureza do trabalho realizado no laboratório e os regulamentos e procedimentos de segurança.

A experimentação de aparelhos após a sua revisão, por exemplo, verificação da eficácia das câmaras de segurança biológica depois da instalação de novos filtros, deve ser realizada pelo responsável da segurança ou sob o seu controlo.

Os laboratórios ou instituições que não tenham os seus próprios serviços técnicos devem ter boas relações com os fornecedores locais desses serviços e familiarizá-los com o equipamento e o trabalho do laboratório.

Os engenheiros e o pessoal de manutenção só devem entrar nos laboratórios de nível 3 ou 4 de segurança biológica com autorização do responsável da segurança e/ou do chefe do laboratório e sob a sua supervisão.

Serviços de limpeza

A limpeza dos laboratórios de Nível 3 e 4 de segurança biológica deve ser feita pelo pessoal do laboratório. O pessoal de limpeza só deve entrar em tais laboratórios com autorização do responsável da segurança e/ou do chefe do laboratório e sob a sua supervisão.

21. Programas de formação

Uma formação contínua no local de trabalho é essencial para manter o pessoal do laboratório e o pessoal auxiliar sensibilizados para o problema da segurança. Os chefes de laboratório, com a ajuda do responsável da segurança biológica e outras pessoas competentes, desempenham o principal papel na formação do pessoal. A eficácia desta formação, assim como qualquer formação em saúde e segurança, depende do empenho da direcção, de factores de motivação, boa formação profissional inicial, boa comunicação e por fim as metas e objectivos da organização. Os elementos a seguir apresentados são vitais para um programa eficaz de formação em segurança biológica.

1. ***Avaliar as necessidades.*** Este processo inclui a definição das tarefas a desempenhar, a ordem de importância (em termos de frequência, necessidade e complexidade) e detalhes das medidas necessárias para as realizar.
2. ***Estabelecer objectivos de formação.*** Estes são comportamentos observáveis que se espera o pessoal adoptará no trabalho, depois da formação. Estes objectivos podem levar em linha de conta as condições em que decorrem certas actividades ou comportamentos e o nível de competência exigido.
3. ***Especificar o conteúdo da formação e os meios utilizados.*** O conteúdo representa os conhecimentos ou competências que a pessoa deve conhecer a fundo para poder atingir os objectivos de comportamento. O conteúdo do programa de formação em segurança biológica é normalmente definido pelas pessoas que conhecem melhor o trabalho e as suas exigências. Outras abordagens utilizadas podem concentrar-se nos resultados de exercícios de resolução de problemas ou na concepção de medidas de aprendizagem para corrigir erros cometidos ao utilizar uma dada técnica. Não está provado que um determinado método pedagógico (conferências, ensino através da televisão, ensino por computador, vídeo interactivo, etc.) seja superior a um outro. Tudo depende das necessidades específicas de formação, da composição do grupo em formação, etc.
4. ***Levar em linha de conta as capacidades individuais para aprender.*** Uma formação eficaz deve levar em linha de conta as características ou atributos das pessoas em formação. Indivíduos e grupos podem diferir em aptidões, grau de instrução, cultura, maneira de se exprimir e níveis de competência antes da formação. A abordagem adoptada poderá ser ditada pela maneira como as pessoas em formação vêem o programa em termos de melhoria da sua competência profis-

sional ou da sua segurança pessoal. Certas pessoas aprendem de uma maneira mais visual ou prática, enquanto outras preferem documentos escritos. Também se deve levar em consideração qualquer necessidade especial do pessoal, como por exemplo adaptar os cursos para as pessoas com problemas de audição. Além de levar em conta todos estes elementos, recomenda-se a todas as pessoas que preparem programas de formação em segurança que se familiarizem com os princípios de formação de adultos.

5. ***Especificar as condições de aprendizagem.*** O meio de instrução (por exemplo, curso, videocassete, documentos escritos, etc.) não deve inibir nem estar em contradição ou sem relação com a aprendizagem da técnica ou tópico ensinado. Por exemplo, se a instrução tem por objectivo desenvolver aptidões em técnicas de resolução de problemas, a abordagem pedagógica deve privilegiar a reflexão e a dialéctica mais do que a simples memorização. A formação prestada deve exigir comportamentos produtivos e/ou resultados apropriados (positivos, exactos, críveis). Por outro lado, todos os elementos da formação que forneçam oportunidades para aplicação prática em condições análogas às do trabalho reforçarão a transferência da competência para o trabalho efectivo.
6. ***Avaliação da formação.*** Esta componente fornece informações que ajudam a determinar se a formação atingiu o objectivo esperado. Esta avaliação faz-se geralmente de quatro formas:
   - medindo a reacção dos participantes à formação prestada
   - medindo a memorização e/ou os resultados dos participantes
   - avaliando as alterações de comportamento no posto de trabalho
   - medindo os resultados tangíveis em termos dos objectivos ou metas da organização.

   A avaliação mais completa de uma acção de formação inclui avaliações de cada uma das quatro áreas. O meio de avaliação menos eficaz é o de só levar em conta as reacções do participante à formação, dado que isso pode ter pouca relação com o âmbito da formação em si; este meio não deverá ser utilizado como a única forma de medir a eficácia da formação.
7. ***Revisão da formação.*** As avaliações de uma formação raramente indicam se um programa de formação é um êxito ou um fracasso total dado que para medir os resultados se utilizam múltiplos critérios. Geralmente, os dados indicam que certas partes do curso foram melhor compreendidas, memorizadas ou aplicadas do que outras. Depois da formação, variações ou lacunas nos conhecimentos ou competências desejadas podem reflectir a necessidade de prolongar a formação, de mudar as técnicas pedagógicas ou de recrutar instrutores mais competentes.

A OMS fornece vários meios para formação em segurança microbiológica.

PARTE VIII

Lista de controlo de segurança

22. Lista de controlo de segurança

Esta lista de controlo destina-se a facilitar a avaliação do grau de segurança e de protecção microbiológicas de laboratórios biomédicos.

Locais

1. Na construção das instalações ou em avaliações ulteriores levou-se em linha de conta as directivas da fiscalização e certificação?
2. Os locais estão em conformidade com as exigências nacionais e locais para obras públicas, incluindo as relacionadas com precauções para o caso de desastres naturais?
3. Os locais estão geralmente em ordem e sem obstruções?
4. Os locais estão limpos?
5. Os solos têm defeitos de estrutura?
6. Os solos e os degraus das escadas são uniformes e antiderrapantes?
7. O espaço de trabalho é adequado para trabalhar sem perigo?
8. Os espaços de circulação e os corredores são adequados para o movimento de pessoas e de grandes aparelhos?
9. As bancadas de trabalho, o mobiliário e as instalações estão em boas condições?
10. As superfícies de trabalho são resistentes a dissolventes e produtos químicos corrosivos?
11. Há um lavatório em cada sala do laboratório?
12. A construção e a manutenção das instalações impedem a entrada e refúgio de animais roedores e artrópodes?
13. Todas as canalizações de vapor e de água quente à vista estão isoladas ou resguardadas para proteger o pessoal?
14. O laboratório dispõe de um grupo electrogéneo para o caso de uma falta de corrente?
15. O acesso aos locais do laboratório pode ser limitado ao pessoal autorizado?
16. Foi feita uma avaliação dos riscos para assegurar que o laboratório dispõe de equipamento e instalações apropriadas para a execução do trabalho a que está destinado?

Armazenagem

1. As instalações de armazenagem, prateleiras, etc. estão arranjadas de maneira que o material armazenado não possa escorregar, desabar nem cair?

2. As instalações de armazenagem não têm acumulação de lixo, materiais inúteis e objectos nos quais se pode tropeçar e que representem perigo de incêndio, de explosão ou de abrigo de animais nocivos?
3. Os congeladores e os locais de armazenagem podem ser fechados à chave?

Saneamento e instalações para o pessoal

1. Os locais são mantidos em boas condições de limpeza, ordem e higiene?
2. Dispõem de água potável?
3. Têm instalações sanitárias limpas e correctas para homens e mulheres separadamente?
4. Dispõem de água quente e fria, sabão e toalhas das mãos?
5. Têm vestiários separados para homens e mulheres?
6. Os membros do pessoal dispõem de armários (por exemplo, cacifos) onde podem deixar a sua própria roupa?
7. O pessoal dispõe de uma sala para almoçar, etc.?
8. O nível sonoro é aceitável?
9. O sistema de recolha e eliminação do lixo corrente é satisfatório?

Aquecimento e ventilação

1. A temperatura do local de trabalho é agradável?
2. As janelas viradas ao sol têm persianas?
3. A ventilação é adequada, por exemplo, ar renovado pelo menos seis vezes por hora, especialmente nas salas com ventilação mecânica?
4. O sistema de ventilação está munido de filtros HEPA?
5. A ventilação mecânica compromete os fluxos de ar no interior e à volta das CSB e câmaras de ventilação?

Iluminação

1. A iluminação geral é adequada (por exemplo, 300–400 lux)?
2. As bancadas de trabalho têm iluminação própria?
3. Todas as áreas estão bem iluminadas sem cantos sombrios nas salas e corredores?
4. Os tubos fluorescentes estão paralelos às superfícies de trabalho?
5. Os tubos fluorescentes têm um espectro de cores equilibrado?

Serviços

1. Cada sala de laboratório está equipada com um número suficiente de bancas, torneiras de água e de gás e tomadas eléctricas para trabalhar sem perigo?
2. Existe um programa adequado de inspecção e manutenção de fusíveis, lâmpadas, cabos, canalizações, etc.?
3. As avarias são reparadas num espaço de tempo razoável?
4. Existem serviços técnicos e de manutenção internos, com engenheiros e operários competentes com alguns conhecimentos da natureza dos trabalhos efectuados no laboratório?

5. O acesso do pessoal técnico e de manutenção a várias áreas do laboratório é controlado e registado?
6. Não existindo serviços técnicos e de manutenção internos, engenheiros e construtores locais foram contactados e familiarizados com o equipamento e o trabalho do laboratório?
7. O laboratório dispõe de serviços de limpeza?
8. O acesso do pessoal de limpeza a várias áreas do laboratório é controlado e registado?
9. Existem serviços informáticos e estão protegidos?

Segurança

1. Foi feita uma avaliação qualitativa de riscos e ameaças possíveis para definir os riscos que o sistema de segurança deve controlar?
2. Foram definidos os riscos aceitáveis e os parâmetros de planificação da resposta a incidentes?
3. Quando não está ninguém no edifício, fica este fechado com segurança?
4. As portas e as janelas podem resistir a actos de vandalismo?
5. As salas onde se encontram materiais perigosos e equipamento caro ficam fechadas à chave quando não há ninguém dentro?
6. O acesso a tais salas, ao equipamento e aos materiais é devidamente controlado e registado?

Prevenção e protecção contra incêndios

1. Existe um sistema de alarme de incêndio?
2. As portas anti-fogo estão em boas condições?
3. O sistema de detecção de incêndios está em boas condições de funcionamento e é regularmente verificado?
4. Os postos de alarme de incêndio são acessíveis?
5. Todas as saídas estão marcadas com sinais luminosos adequados?
6. O acesso às saídas está indicado quando não é imediatamente visível?
7. As saídas não estão obstruídas com decorações, móveis ou equipamento, nem fechadas quando o edifício está ocupado?
8. O acesso às saídas está organizado de maneira a que, para fugir, não seja necessário passar através de uma área de alto risco?
9. Todas as saídas dão para o exterior?
10. Os corredores, passagens e áreas de circulação estão livres e não obstruídos de maneira a permitir movimentos de pessoal e de material de combate a incêndios?
11. O material e o equipamento de combate a incêndios é facilmente identificável graças a um código de cores apropriado?
12. Os extintores portáveis estão sempre cheios, em bom estado e colocados nos lugares previstos?

13. As salas de laboratório onde existem riscos potenciais de incêndio estão equipadas com extintores e/ou cobertores anti-fogo para casos de emergência?
14. Se numa sala se utilizam líquidos e gases inflamáveis, a ventilação mecânica é suficiente para remover os vapores antes que estes atinjam uma concentração perigosa?
15. O pessoal está formado para responder a casos de incêndio?

Armazenagem de líquidos inflamáveis

1. As reservas de líquidos inflamáveis são armazenadas num local separado do edifício principal?
2. O local está claramente identificado como área de risco de incêndio?
3. Tal local está equipado de um sistema de ventilação natural ou mecânica distinto do sistema do edifício principal?
4. Os interruptores da luz são estanques ou estão colocados no exterior do edifício?
5. O sistema de iluminação interior está protegido para impedir a inflamação dos vapores ao contacto de faíscas?
6. Os líquidos inflamáveis estão armazenados em recipientes apropriados e ventilados, feitos de materiais não combustíveis?
7. O conteúdo dos recipientes está correctamente indicado nas etiquetas?
8. Há extintores e/ou cobertores anti-fogo apropriados colocados no exterior mas perto do armazém de líquidos inflamáveis?
9. Há cartazes « Proibido fumar » bem visíveis no interior e no exterior do armazém de líquidos inflamáveis?
10. A quantidade de substâncias inflamáveis conservadas nas salas de laboratório é a mais pequena possível?
11. Tais substâncias estão armazenadas em armários devidamente fabricados para conter produtos inflamáveis?
12. Tais armários estão devidamente etiquetados com avisos « Líquido inflamável – Perigo de incêndio »?
13. O pessoal foi preparado para utilizar e transportar correctamente líquidos inflamáveis?

Gases comprimidos e liquefeitos

1. Cada botija de gás portátil é claramente etiquetada indicando o seu conteúdo e o respectivo código de cor?
2. Os cilindros de gás comprimido e as suas válvulas reguladoras de pressão são regularmente verificadas?
3. A manutenção de tais válvulas é feita regularmente?
4. Quando se utiliza um cilindro, liga-se ao mesmo um dispositivo de redução da pressão?
5. Quando os cilindros não estão a ser utilizados ou são transportados, estão fechados com as tampas de protecção?

6. Todos os cilindros de gás comprimido estão arrumados de maneira a não cair, especialmente no caso de catástrofe natural?
7. Os cilindros e reservatórios de gás de petróleo líquido estão colocados longe de fontes de calor?
8. O pessoal foi formado para utilizar e transportar correctamente gases comprimidos e liquefeitos?

Riscos eléctricos

1. Todas as instalações novas e todas as substituições, modificações ou reparações são feitas e mantidas segundo as normas nacionais de segurança eléctrica?
2. A instalação eléctrica interior está ligada à terra (por exemplo, um sistema de três fios)?
3. Todos os circuitos do laboratório têm disjuntores e fios de terra?
4. Todos os aparelhos eléctricos foram aprovados por um laboratório de testes?
5. Os cabos de ligação flexíveis de todos os aparelhos são tão curtos quanto possível, estão em boas condições, e não estão gastos, estragados ou emendados?
6. Cada tomada só é utilizada para um aparelho (sem qualquer adaptador)?

Protecção individual

1. Para o seu trabalho normal, todos os membros do pessoal dispõem de roupa de protecção com modelos e tecidos aprovados tais como batas, fatos, aventais, luvas?
2. Para trabalhar com produtos químicos perigosos e substâncias radioactivas e cancerígenas o pessoal dispõe de roupa de protecção suplementar tal como aventais e luvas de borracha para limpar derrames, e luvas resistentes ao calor para esvaziar autoclaves e fornos?
3. O pessoal dispõe de óculos de protecção e viseiras?
4. Existem locais para lavagem dos olhos?
5. Existem chuveiros de emergência?
6. A protecção contra radiações é conforme às normas nacionais e internacionais, incluindo o fornecimento de dosímetros?
7. O laboratório dispõe de máscaras respiratórias que são regularmente limpas, desinfectadas, verificadas e guardadas em condições de limpeza e higiene?
8. Tais máscaras são providas de filtros apropriados, por exemplo, filtros HEPA para retenção de microrganismos e filtros especiais para gases e partículas?
9. As máscaras são bem adaptadas aos utilizadores?

Saúde e segurança do pessoal

1. Existe um serviço de saúde ocupacional?
2. Há caixas de primeiros socorros em locais estratégicos?
3. O laboratório dispõe de socorristas qualificados?
4. Tais socorristas estão formados para enfrentar emergências próprias ao laboratório, como por exemplo, contacto com produtos químicos corrosivos, ingestão acidental de venenos e material infeccioso?

5. O pessoal que não trabalha no laboratório (de limpeza e administrativo) está informado dos riscos potenciais que podem provir do laboratório e dos materiais nele manipulados?
6. Há avisos afixados de maneira visível com informações claras sobre a localização dos postos de primeiros socorros, os números de telefone de serviços de emergência, etc.?
7. As mulheres em idade de reprodução são informadas das consequências possíveis do trabalho com certos microrganismos, agentes cancerígenos, mutagénicos e teratogénicos?
8. Diz-se às mulheres em idade de reprodução que se estão ou suspeitam estar grávidas, devem informar o membro indicado do pessoal médico/científico para que, se necessário, se tomem medidas alternativas para o seu trabalho?
9. Existe um programa de vacinação pertinente com o trabalho do laboratório?
10. Há disponibilidade de testes cutâneos e/ou exames radiológicos para o pessoal que trabalha com material eventualmente infectado com bacilos tuberculosos ou outros materiais que exijam tais medidas?
11. Existem registos seguros de doenças e acidentes?
12. Utilizam-se sinais de alerta e de prevenção de acidentes para reduzir os acidentes de trabalho?
13. O pessoal está formado para adoptar práticas apropriadas de segurança biológica?
14. O pessoal de laboratório é encorajado a assinalar riscos de exposição?

Equipamento de laboratório

1. Todos os aparelhos estão certificados como seguros?
2. Existem protocolos para descontaminação do material antes da manutenção?
3. As CSB e as câmaras de ventilação de fumo são regularmente verificadas?
4. As autoclaves e outros aparelhos que funcionam sob pressão são regularmente inspeccionados?
5. Os cestos de centrifugação e os rotores são regularmente inspeccionados?
6. Os filtros HEPA são mudados regularmente?
7. Utilizam-se pipetas em vez de agulhas hipodérmicas?
8. Os objectos de vidro que estejam rachados e lascados são sempre deitados fora e nunca reutilizados?
9. Existem recipientes seguros para vidros partidos?
10. Quando possível, utiliza-se plástico em vez de vidro?
11. Existem recipientes especiais para objectos cortantes e são realmente utilizados?

Materiais infecciosos

1. As amostras são recebidas em boas condições de segurança?
2. Conservam-se registos dos materiais que chegam?
3. As amostras são desembaladas em CSB com cuidado e atenção para o caso de eventuais quebras ou derrames?

4. Utilizam-se luvas e outra roupa de protecção para desembalar amostras?
5. O pessoal foi formado para expedir substâncias infecciosas segundo os regulamentos nacionais e/ou internacionais em vigor?
6. As bancadas de trabalho são mantidas limpas e arrumadas?
7. Os resíduos de material infeccioso são removidos diariamente ou com mais frequência e eliminados segundo as normas de segurança?
8. Todos os membros do pessoal sabem como proceder em caso de quebra e derrame de culturas e materiais infecciosos?
9. O funcionamento dos esterilizadores é controlado por meio de indicadores químicos, físicos e biológicos apropriados?
10. Existem procedimentos para descontaminar as centrifugadoras regularmente?
11. Dispõe-se de cestos estanques para centrifugadoras?
12. Utilizam-se desinfectantes apropriados? São utilizados correctamente?
13. Existe uma formação especial para o pessoal que trabalha em laboratórios de confinamento – Nível 3 de segurança biológica e laboratórios de confinamento máximo – Nível 4 de segurança biológica?

Produtos químicos e substâncias radioactivas

1. Os produtos químicos incompatíveis são efectivamente armazenados ou manipulados separadamente?
2. Todos os produtos químicos são correctamente etiquetados com nomes e advertências?
3. Os avisos de risco químico estão bem vísiveis?
4. São fornecidos conjuntos para limpeza de derrames?
5. O pessoal está preparado para se ocupar de derrames?
6. Os produtos inflamáveis estão armazenados correctamente, em segurança e em pequenas quantidades em armários aprovados?
7. Existem carrinhos para transportar botijas?
8. Há um responsável de protecção contra radiações ou um manual de referência que se possa consultar?
9. O pessoal está devidamente formado para trabalhar com materiais radioactivos em condições de segurança?
10. Mantém-se registo dos stocks e da utilização de substâncias radioactivas?
11. O laboratório dispõe de blindagens de protecção contra a radioactividade?
12. A exposição do pessoal a radiações é controlada?

PARTE IX

Referências, anexos e índex

Referências

1. *Safety in health-care laboratories*. Geneva, World Health Organization, 1997, (http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_LAB_97.1.pdf).
2. Garner JS, Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:24–52, (http://www.cdc.gov/ncidod/hip/isolat/isolat.htm).
3. Hunt GJ, Tabachnick WJ. Handling small arbovirus vectors safely during biosafety level 3 containment: *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) and exotic bluetongue viruses. *Journal of Medical Entomology*, 1996, 33:271–277.
4. National Research Council. *Occupational health and safety in the care and use of research animals*. Washington, DC, National Academy Press, 1997.
5. Richmond JY, Quimby F. Considerations for working safely with infectious disease agents in research animals. In: Zak O, Sande MA, eds. *Handbook of animal models of infection. London, Academic Press, 1999:69–74.*
6. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 4th ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 1999.
7. *Class II (laminar flow) biohazard cabinetry*. Ann Arbor, MI, National Sanitation Foundation, 2002 (NSF/ANSI 49-2002).
8. Richmond JY, McKinney RW. *Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets*, 2nd ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 2000.
9. *Microbiological safety cabinets. Recommendations for information to be exchanged between purchaser, vendor and installer and recommendations for installation*. London, British Standards Institution, 1992 (Standard BS 5726-2:1992).
10. *Microbiological safety cabinets. Recommendations for selection, use and maintenance.* London, British Standards Institution, 1992 (Standard BS 5726-4:1992).
11. *Biological containment cabinets (Class I and II): installation and field testing*. Toronto, Canadian Standards Association, 1995 (Standard Z316.3-95 (R2000)).
12. Collins CH, Kennedy DA. *Laboratory acquired infections: history, incidence, causes and prevention*, 4th ed. Oxford, Butterworth-Heinemann, 1999.
13. Health Canada. *Laboratory biosafety manual*, 2nd ed. Ottawa, Minister of Supply and Services Canada, 1996.
14. *Biological safety cabinets – biological safety cabinets (Class I) for personnel and environment protection*. Sydney, Standards Australia International, 1994 (Standard AS 2252.1-1994).

15. *Biological safety cabinets – laminar flow biological safety cabinets (Class II) for personnel, environment and product protection*. Sydney, Standards Australia International, 1994 (Standard AS 2252.2-1994).
16. Standards Australia/Standards New Zealand. *Biological safety cabinets – installation and use*. Sydney, Standards Australia International, 2000 (Standard AS/NZS 2647:2000).
17. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. *Guidance on the use, testing and maintenance of laboratory and animal flexible film isolators*. London, Health and Safety Executive, 1990.
18. Standards Australia/Standards New Zealand. *Safety in laboratories – microbiological aspects and containment facilities*. Sydney, Standards Australia International, 2002 (Standard AS/NZS 2243.3:2002).
19. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1987, 36 (Suppl. 2):1S–18S.
20. Bosque PJ et al. Prions in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99:3812–3817.
21. Bartz JC, Kincaid AE, Bessen RA. Rapid prion neuroinvasion following tongue infection. *Journal of Virology*, 2003, 77:583–591.
22. Thomzig A et al. Widespread PrP^{Sc} accumulation in muscles of hamsters orally infected with scrapie. *EMBO Reports*, 2003, 4:530–533.
23. Glatzel M et al. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeld-Jakob disease. *New England Journal of Medicine*, 2003, 349:1812–1820.
24. Brown P, Wolff A, Gajdusek DC. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfield-Jakob disease. *Neurology*, 1990, 40:887–890.
25. Taylor DM et al. The effect of formic acid on BSE and scrapie infectivity in fixed and unfixed brain-tissue. *Veterinary Microbiology*, 1997, 58:167–174.
26. Safar J et al. Prions. In: Richmond JY, McKinney RW, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 4th ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services, 1999:134–143.
27. Bellinger-Kawahara C et al. Purified scrapie prions resist inactivation by UV irradiation. *Journal of Virology*, 1987, 61:159–166.
28. Health Services Advisory Committee. *Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories*. London, HSE Books, 1991.
29. Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ. *Disinfection, preservation and sterilization*, 3rd ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1999.
30. Ascenzi JM. *Handbook of disinfectants and antiseptics*. New York, NY, Marcel Dekker, 1996.
31. Block SS. *Disinfection, sterilization & preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
32. Rutala WA. APIC guideline for selection and use of disinfectants. 1994, 1995, and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in INfection Control and Epidemiology, INC. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:313–342.
33. Sattar SA, Springthorpe VS, Rochon M. A product based on accelerated and stabilized hydrogen peroxide: evidence for broad-spectrum germicidal activity. *Canadian Journal of Infection Control*, 1998, 13:123–130.
34. Schneider PM. Emerging low temperature sterilization technologies. In: Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care. Champlain*, NY, Polyscience, 1997:79–92.

35. Springthorpe VS. New chemical germicides. In: Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:273–280.
36. Steelman VM. Activity of sterilization processes and disinfectants against prions. In: Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997: 255–271.
37. Taylor DM. Transmissible degenerative encephalopathies: inactivation of the unconventional causal agents. In: Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ, eds. *Disinfection, preservation and sterilization, 3rd ed*. Oxford, Blackwell Scientific, 1999:222–236.
38. *Infection control guidelines for hand washing, cleaning, disinfection and sterilization in health care*, 2nd ed. Ottawa, Laboratory Centre for Disease Control, Health Canada, 1998.
39. Springthorpe VS, Sattar SA. Chemical disinfection of virus-contaminated surfaces. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 1990, 20:169–229.
40. *Recommendations on the transport of dangerous goods, 13th revised edition*, New York and Geneva, United Nations, 2003, (http://www.unece.org/trans/danger/publi/unrec/rev13/13files_e.html).
41. *Technical instructions for the safe transport of dangerous goods by air*, 2003–2004 Edition. Montreal, International Civil Aviation Organization, 2002.
42. Economic Commission for Europe Inland Transport Committee. *Restructured ADR applicable as from 1 January 2003*. New York and Geneva, United Nations, 2002, (http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr2003/ContentsE.html).
43. *Infectious substances shipping guidelines*. Montreal, International Air Transport Association, 2003, (http://www.iata.org/ads/issg.htm).
44. *Transport of Infectious Substances*. Geneva, World Health Organization, 2004, (http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_9/en/).
45. Berg P et al. Asilomar conference on recombinant DNA molecules. *Science*, 1975, 188: 991–994.
46. European Council. Council Directive 98/81/EC of 26 October 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified microorganisms. *Official Journal*, 1998, L330:13–31.
47. O'Malley BW Jr et al. Limitations of adenovirus-mediated interleukin-2 gene therapy for oral cancer. *Laryngoscope*, 1999, 109:389–395.
48. World Health Organization. Maintenance and distribution of transgenic mice susceptible to human viruses: memorandum from a WHO meeting. *Bulletin of the World Health Organization*, 1993, 71:497–502.
49. Furr AK. *CRC handbook of laboratory safety*, 5th ed. Boca Raton, FL, CRC Press, 2000.
50. Lenga RE. *The Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety Data*, 2nd ed. Milwaukee, WI, Aldrich Chemical Company, 1988.
51. Lewis RJ. *Sax's dangerous properties of industrial materials*, 10th ed. Toronto, John Wiley and Sons, 1999.

ANEXO 1

Primeiros socorros

Os primeiros socorros consistem na aplicação correcta e imediata de princípios aceites de tratamento médico no local de um acidente. É o método aprovado de tratamento de uma pessoa acidentada até esta poder ser tratada por um médico para receber o tratamento definitivo das suas lesões.

O material de primeiros socorros compõe-se no mínimo de uma caixa de primeiros socorros, vestuário de protecção e equipamento de segurança para o socorrista, e dispositivo de irrigação ocular.

Caixa de primeiros socorros

A caixa de primeiros socorros deve ser feita de materiais que protejam o seu conteúdo da poeira e da humidade. Deve estar bem à vista e ser facilmente reconhecida. Segundo uma convenção internacional, deve estar marcada com uma cruz branca em fundo verde.

A caixa de primeiros socorros deve conter:

1. Uma ficha de informação com conselhos gerais
2. Pensos adesivos esterilizados em embalagens individuais e de vários tamanhos
3. Pensos oculares esterilizados com meios de fixação
4. Ligaduras triangulares
5. Compressas esterilizadas para cobrir feridas
6. Alfinetes de segurança
7. Diversas ligaduras esterilizadas mas não impregnadas de substâncias medicinais
8. Um manual de primeiros socorros reconhecido, por exemplo, publicado pela Cruz Vermelha Internacional.

O equipamento de protecção para o socorrista inclui:

1. Protecção bocal para o boca-a-boca
2. Luvas e outras protecções mecânicas contra exposição a sangue[1]
3. Conjunto para limpeza de derrames sanguíneos (ver Capítulo 14 do Manual).

Também é preciso haver à disposição equipamento de irrigação ocular e o pessoal deve estar preparado para o utilizar correctamente.

[1] Garner JS, Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:24–52 (http://www.cdc.gov/ncidod/hip/isolat/isolat.htm).

ANEXO 2

Vacinação do pessoal

Os riscos inerentes ao trabalho com certos agentes infecciosos devem ser discutidos em detalhe com cada investigador. Antes do início do trabalho sobre tais agentes, é preciso considerar a disponibilidade local, a autorização de venda e a utilidade de possíveis vacinas e/ou medicamentos (por exemplo, antibióticos) em caso de exposição. Certos membros do pessoal podem já estar imunizados devido a uma vacinação ou infecção anteriores.

Se uma dada vacina ou toxóide está localmente disponível e autorizado à venda, a sua administração deve ser proposta uma vez realizada uma avaliação do risco de exposição possível e um exame clínico da pessoa.

É preciso igualmente poder dispor de serviços para tratamento clínico específico após infecções acidentais.

ANEXO 3

Centros Colaboradores da OMS para a Segurança Biológica

Informações sobre a disponibilidade de cursos, meios e materiais pedagógicos podem ser obtidas escrevendo a qualquer dos seguintes organismos:

- Biosafety programme, Department of Communicable Disease Surveillance and Response, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Suíça (http://www.who.iny/csr.).
- WHO Collaborating Centre for Biological Safety, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Nobels Väg 18, S-171 82 Solna, Suécia (http://www.smittsky-ddsinstitutet.se/English/english.htm).
- WHO Collaborating Centre on Biosafety Technology and Consultative Services, Office of Laboratory Security, Health Canada, 100 Colonnade Road, Loc.: 6201A, Ottawa, Ontario, Canadá K1A 0K9 (http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/ols-bsl).
- WHO Collaborating Centre for Applied Biosafety Programmes and Training, Office of Health and Safety, Center for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, Mailstop F05, Atlanta, GA 30333, EUA (http://www.cdc.gov/).
- WHO Collaborating Centre for Applied Biosafety Programmes and Research, Division of Occupational Health and Safety, Office of Research Services, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, 13/3K04 13 South Drive MSC 5760, Bethesda, MD 20892-5760, EUA (http://www.nih.gov/).
- WHO Collaborating Centre for Biosafety, Victoria Infectious Diseases Reference Laboratory, 10 Wreckyn St, Nth Melbourne, Victoria 3051, Australia. Postal address: Locked Bag 815, PO Carlton Sth, Victoria 3053, Australia (http://www.vidrl.org.au/).

ANEXO 4

Segurança na utilização do equipamento

A utilização de certos aparelhos e instrumentos pode implicar riscos microbiológicos. Outros são especialmente concebidos para evitar ou reduzir riscos biológicos (ver Capítulo 11).

Equipamento capaz de criar riscos

No Quadro A4-1 encontra-se uma lista dos equipamentos e manipulações que podem criar riscos e sugestões sobre a maneira como tais riscos podem ser eliminados ou reduzidos.

Quadro A4-1. ***Equipamento e manipulações que podem criar riscos***

EQUIPAMENTO	RISCO	COMO ELIMINAR OU REDUZIR O RISCO
Agulhas hipodérmicas	Inoculação acidental, aerossol ou derrame	• Não voltar a inserir no invólucro nem partir as agulhas. • Utilizar um tipo de seringa que evita a separação da agulha e seringa, ou um tipo descartável em que a agulha é parte integral do conjunto. • Utilizar boas técnicas de laboratório, isto é: — encher a seringa com cuidado para evitar ao máximo a formação de bolhas e de espuma — evitar a utilização de seringas para misturar líquidos infecciosos; no caso de não poder, assegurar-se que o bico da agulha está sob a superfície do líquido do recipiente e evitar de exercer força excessiva — antes de retirar uma agulha introduzida num frasco através duma rolha de borracha, embrulhar a agulha e a rolha numa compressa de algodão impregnada de um desinfectante apropriado — mantendo a seringa na vertical, rejeitar o excesso de líquido e as bolhas de ar para uma compressa de algodão impregnada de um desinfectante apropriado ou para um pequeno frasco que contenha algodão.

EQUIPAMENTO	RISCO	COMO ELIMINAR OU REDUZIR O RISCO
		• Utilizar uma CSB para todas as manipulações com matéria infecciosa. • Colocar os animais num dispositivo de contenção para os inocular. Utilizar agulhas grossas e curtas ou cânulas para inoculação intranasal ou oral. Utilizar uma CSB. • Depois da utilização, descontaminar a autoclave e assegurar eliminação correcta. Se utilizar um conjunto agulha-seringa descartável, não o desmonte antes de o descontaminar na autoclave.
Centrifugadoras	Aerossóis, projecções e quebra de tubos	• Utilizar copos de centrifugação (copos de segurança) ou rotores fechados. Abrir os copos ou os rotores depois de estes repousarem cerca de 30 minutos ou numa CSB.
Ultracentrifugadoras	Aerossóis, projecções e quebra de tubos	• Instalar um filtro HEPA entre a centrifugadora e a bomba de vácuo. • Manter um registo das horas de utilização de cada rotor e estabelecer um programa de manutenção preventiva para reduzir o risco de avaria mecânica. • Encher e esvaziar os copos ou rotores dentro de uma CSB.
Garrafas anaeróbias	Explosão, dispersão de matéria infecciosa	• Verificar se o cesto metálico à volta do catalisador está em bom estado.
Dissecadores	Implosão, dispersão de fragmentos de vidro e matéria infecciosa.	• Colocar numa caixa metálica sólida.
Homogeneizadores, separadores de tecidos	Aerossóis, escoamentos e quebras	• Fazer funcionar e abrir o equipamento numa CSB. • Utilizar modelos especialmente concebidos para evitar escoamentos a nível dos rolamentos do rotor e juntas circulares, ou utilizar um separador de tecidos tipo *stomacher*. • Antes de abrir a cuba do misturador, esperar 30 minutos para que o aerossol tenha tempo de assentar. Refrigerar para condensar os aerossóis. • Se utilizar um separador manual, segurar o tubo com um tampão de matéria absorvente.

EQUIPAMENTO	RISCO	COMO ELIMINAR OU REDUZIR O RISCO
Geradores de ultra-sons, limpadores a ultra-sons	Aerossóis, lesões do aparelho auditivo, dermites	• Fazer funcionar e abrir o equipamento numa CSB ou num local confinado. • Assegurar o isolamento para proteger contra os ultra-sons. • Usar luvas para proteger a pele contra os efeitos químicos de detergentes.
Misturadores de culturas, agitadores	Aerossóis, projecções e derrames	• Trabalhar numa CSB ou num local de confinamento primário especialmente concebido. • Utilizar frascos de cultura sólidos munidos de rolhas de rosca, com uma saída protegida com filtro, se necessário, e bem seguros.
Congeladores (liofilizadores)	Aerossóis e contaminação por contacto directo	• Utilizar ligações circulares para manter o aparelho hermeticamente fechado. • Utilizar filtros de ar para proteger o circuito de vácuo. • Utilizar um método satisfatório de descontaminação, por exemplo, por via química. • Fornecer um captador de humidade inteiramente metálico e um condensador de vapor. • Verificar com cuidado todos os frascos de vidro para ver se não estão estragados. Utilizar unicamente frascos de vidro concebidos para utilização no vácuo.
Aparelhos para banho-maria	Proliferação de microrganismos. A azida de sódio forma compostos explosivos com certos metais.	• Limpar e desinfectar regularmente. • Não utilizar azida de sódio para evitar a proliferação de microrganismos.

Além dos riscos microbiológicos, também é preciso prever e evitar os riscos associados a equipamento. O Quadro A4-2 dá uma lista de exemplos de algumas causas de acidentes.

Quadro A4-2. ***Causas correntes de acidentes relacionados com o equipamento***

ACIDENTE	CAUSA DO ACIDENTE	ELIMINAR OU REDUZIR O RISCO
Defeito de concepção ou construção		
Incêndio de origem eléctrica em incubadoras	Falta de interruptor de excesso de temperatura	• Respeitar as normas nacionais
Electrocussão	Falta de ligação à terra apropriada	
Utilização incorrecta		
Acidente com centrifugadora	Falta de equilíbrio dos copos de centrifugação sobre os rotores de oscilação livre	• Formar e dirigir o pessoal
Explosão de uma incubadora anaeróbia	Utilização de gás não indicado	• Formar e dirigir o pessoal
Adaptação incorrecta		
Explosão numa garrafa vazia de utilização doméstica	Más condições de transporte do azoto líquido	• Utilizar equipamento especialmente concebido.
Explosão num frigorífico de tipo doméstico	Produto químico perigoso não guardado em recipiente à prova de faíscas/explosão, por exemplo, éter dietílico num recipiente que verte pela rolha	• Guardar os dissolventes e extractos a ponto de centelha baixo unicamente em frigoríficos ou câmaras à prova de faíscas/explosões.
Falta da manutenção devida		
Incêndio num fotómetro de chama	Montagem incorrecta dos componentes durante a manutenção	• Formar e dirigir o pessoal

ANEXO 5

Produtos químicos: perigos e precauções

Este anexo apresenta as informações básicas de saúde e segurança assim como dados e precauções apropriadas para um certo número de produtos químicos correntemente utilizados em laboratórios de análises biológicas e de investigação. A lista não é exaustiva e a ausência de qualquer produto químico especial não significa que tal produto não seja perigoso. Todos os produtos químicos utilizados em laboratório devem ser manipulados com cuidado e de maneira a reduzir ao mínimo a exposição.

Quadro A5-1. ***Produtos químicos: perigos e precauções***

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Acetaldeído CH_3CHO	Líquido ou gás incolor, odor picante e a fruta; ponto de fusão –121°C, ponto de ebulição 21°C.	Ligeira irritação para os olhos e as vias respiratórias. Efeitos sobre o sistema nervoso central, o aparelho respiratório e os rins. Eventualmente cancerígeno.	Extremamente inflamável; as misturas vapor/ar são explosivas; ponto de ignição –39°C, limites de inflamação 4–57%.	Nem chamas vivas nem faíscas, proibido fumar, evitar contacto com superfícies quentes. Conservar em recipientes hermeticamente fechados em áreas separadas de produtos oxidantes; guardar unicamente se o produto estiver estabilizado. Utilizar em câmara com exaustor ou com boa ventilação. Utilizar luvas de borracha, óculos de protecção e protecção respiratória.	Ao contacto com o ar pode formar peróxidos explosivos. Pode polimerizar-se sob a acção de ácidos, substâncias alcalinas e na presença de vestígios de metais. Redutor forte, reage violentamente com oxidantes, diversas substâncias orgânicas, halogéneos, ácido sulfúrico e aminas.	
Acetato de tálio $TlC_2H_3O_2$	Cristais brancos deliquescentes; ponto de fusão 110°C; muito solúvel na água.	Extremamente tóxico no caso de ingestão com possíveis efeitos cumulativos. Afecta os sistemas nervoso e cardiovascular. Nocivo em caso de contacto ocular e cutâneo.		Manter os recipientes bem fechados. Trabalhar em câmara de fumo, sob chaminé ou com exaustor. Utilizar roupa de protecção incluindo máscara respiratória, óculos de segurança para laboratório de química, luvas de borracha ou plástico, protecção ocular.		

Acetileno $HC \equiv CH$	Gás incolor, odor ligeiro, como éter ou alho; ponto de fusão –81°C, sublimado a –84°C.	Asfixiante; gangrena causada por frio intenso ao contacto com a pele.	Extremamente inflamável; limites de inflamação 2,5–100%.	Para proteger a pele utilizar luvas isolantes contra o frio intenso e óculos de protecção ou viseira. Nem chamas vivas nem faíscas, proibido fumar. Trabalhar com exaustor, e com aparelhos eléctricos e iluminação à prova de explosão.	Forte agente redutor; reage violentamente com oxidantes e com o flúor ou cloro sob acção da luz. Reage com o cobre, a prata e o mercúrio ou seus sais, formando compostos sensíveis aos choques.	
Acetona CH_3COCH_3	Líquido volátil incolor, odor adocicado; ponto de fusão –95°C, ponto de ebulição 56°C.	Ligeiramente irritante para os olhos, nariz e garganta. A inalação pode provocar tonturas, narcose e coma.	Extremamente inflamável; ponto de ignição –18°C, limites de inflamação 2,2–12,8%.	Armazenar os recipientes num local bem ventilado e afastados de qualquer fonte de ignição. Não inalar os vapores. Utilizar protecções respiratórias e oculares.	Reage violentamente com oxidantes (p.e. ácido crómico e ácido nítrico) e com o clorofórmio em presença de uma base. Incompatível com misturas de ácido sulfúrico e ácido nítrico concentradas.	Grandes recipientes e contentores ligados à terra para evitar electricidade estática.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Acetonitrilo CH_3CN	Líquido incolor, odor aromático; ponto de fusão –46°C, ponto de ebulição 82°C.	Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. A exposição pode resultar em convulsões, perda de sentidos, envenenamento por cianeto.	Extremamente inflamável; ponto de ignição 12,8°C, limites de explosão 3,0–16%.	Nem chamas vivas nem faíscas, proibido fumar, evitar o contacto com oxidantes. Utilizar unicamente em áreas sem fontes de ignição. Armazenar em recipientes hermeticamente fechados em áreas separadas de oxidantes. Trabalhar com exaustores. Evitar o contacto com a pele, olhos e membranas mucosas. Utilizar protecção respiratória e luvas de borracha.	Reage com ácidos e bases em solução aquosa, produzindo vapores tóxicos. Reage com oxidantes fortes. Ataca certos tipos de plástico, borracha e revestimento. Decompõe-se por combustão produzindo cianeto de hidrogénio e óxidos de azoto.	
Ácido acético CH_3CO_2H	Líquido incolor, odor picante; ponto de fusão –17°C, ponto de ebulição 118°C; miscível com água.	Corrosivo; provoca queimadelas graves; vapores irritantes. Os efeitos podem ser retardados.	Inflamável; ponto de ignição 40°C, limites de inflamação 5,4–16%.	Não inalar os vapores. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente com água e consultar um médico. Utilizar luvas de nitrilo e protecção ocular.	Reacção violenta ou explosiva com oxidantes.	

Ácido clorídrico (10–37%) HCl Cloreto de hidrogénio	Líquido fumegante incolor com odor picante; ponto de ebulição –121°C; miscível com água.	Corrosivo para os olhos, vias respiratórias e pele; inalação repetida de vapores pode causar bronquite crónica.		Não inalar os vapores; utilizar uma protecção respiratória. No caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente com água e consultar um médico; no caso de contacto com a pele, lavar imediatamente com muita água. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular (óculos ou óculos de protecção).	Reage violentamente com bases (sólidos e soluções concentradas), e de maneira explosiva com o permanganato de potássio sólido. Liberta gases tóxicos ou explosivos ao contacto com muitos metais.	Liberta vapores muito tóxicos em caso de incêndio.
Ácido crómico CrO_3 Óxido de crómio VI	Escamas ou pó inodoros vermelho-escuro frequentemente utilizado em soluções aquosas; ponto de fusão 197°C.	Irritante para os olhos, pele e sistema respiratório. Contacto repetido ou prolongado com a pele pode causar dermatites, úlceras crómicas e sensibilização cutânea. Inalação pode causar reacções de tipo asmáticas. Pode causar perfuração do septo nasal. Cancerígeno para o homem.	Decomposição a 250°C em óxido crómico e oxigénio com aumento do risco de incêndio. Muitas reacções podem causar riscos.	Evitar o contacto com a pele e os olhos; evitar a inalação de poeiras finas e névoa. Trabalhar com ventilação, com exaustor local ou protecção respiratória.	Em solução aquosa é um ácido forte que reage com bases e que é corrosivo. Oxidante poderoso, reage com combustíveis, matérias orgânicas ou outras matérias facilmente oxidáveis (papel, madeira, enxofre, alumínio, plásticos, etc.). Corrosivo para os metais.	

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Ácido fosfórico H_3PO_4	Líquido viscoso incolor ou cristais brancos higroscópicos; ponto de fusão 42°C; decompõe-se abaixo do ponto de ebulição a 213°C; solúvel em água.	Corrosivo; causa queimaduras cutâneas e oculares.	Ataca muitos metais produzindo hidrogénio. Em caso de incêndio, liberta vapores tóxicos.	No caso de contacto com os olhos, lavar com água e consultar um médico. Utilizar luvas de borracha nitrilo e protecção ocular.		
Ácido nítrico (50–70%) HNO_3	Líquido fumegante incolor ou amarelo claro; ponto de fusão –42°C ponto de ebulição 83–121°C; miscível com água.	Corrosivo; causa queimaduras graves aos olhos e pele. A inalação dos vapores pode causar edema pulmonar.	Oxidante; o contacto com matéria combustível pode causar incêndio. Liberta vapores tóxicos em caso de incêndio.	Não respirar os vapores; utilizar protecção respiratória. No caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente e consultar um médico; no caso de contacto com a pele, lavar imediatamente; retirar a roupa contaminada. Utilizar luvas de PVC, avental plástico e óculos de protecção para laboratório de química. Trabalhar em câmara de fumo.	Ácido acético, ácido crómico, ácido cianídrico, anilina, carbono, sulfeto de hidrogénio, bases, metais e muitas outras substâncias.	O ácido nítrico concentrado pode produzir reacções mais perigosas do que qualquer outro reagente químico.

Ácido oxálico HO_2CCO_2H	Cristais incolores; solúvel em água; ponto de fusão 190°C com decomposição.	Nocivo no caso de contacto com a pele ou de ingestão. A poeira é irritante para as vias respiratórias e olhos. As soluções irritam os olhos e podem causar queimaduras cutâneas.	Combustível. Liberta vapores (ou gases) irritantes ou tóxicos no caso de incêndio.	Evitar o contacto com a pele e os olhos.; utilizar protecção ocular e luvas.	Oxidantes; prata e mercúrio e seus compostos.	
Ácido perclórico $HClO_4$	Líquido incolor; miscível com água.	Corrosivo; causa queimaduras graves se ingerido e no caso de contacto com os olhos e pele. Os vapores são corrosivos para os olhos, pele e sistema respiratório. A inalação pode causar edema pulmonar.	Oxidante forte. Não combustível mas facilita a combustão de outras substâncias.	Evitar de respirar os vapores e qualquer outra exposição; utilizar roupa de protecção incluindo luvas de borracha nitrilo e protecção ocular e facial. Trabalhar com soluções quentes em câmara de fumo ou sob chaminé.	Matérias combustíveis e redutoras: anidrido acético, bismuto e suas ligas, álcool, metal, papel, madeira e outras matérias orgânicas.	Oxidante poderoso; pode formar produtos explosivos no caso de contacto com muitas matérias inorgânicas e orgânicas; solos e bancadas de madeira contaminados podem explodir em caso de choques.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Ácido pícrico $C_6H_2(NO_2)_3OH$ 2,4,6-trinitrofenol	Cristais amarelos humedecidos com água ou dissolvidos em álcool; ponto de fusão 122°C; ligeiramente solúvel em água.	Tóxico por ingestão, inalação ou contacto com a pele. A ingestão pode resultar em cefaleias, náuseas. Irritante para os olhos.	Explosivo quando seco.	Manter continuamente húmido ou só utilizar em solução alcoólica.	Forma sais com muitos metais que são mais explosivos que o próprio ácido. Em contacto com cimento pode formar picrato de cálcio que é um explosivo por fricção. Pode reagir vigorosamente com redutores.	Marcas amarelas na pele.
Ácido sulfúrico H_2SO_4	Líquido viscoso, incolor e inodoro; ponto de fusão 10°C ponto de ebulição 340°C (decomposição).	A solução concentrada é corrosiva e causa queimaduras graves; aerossol e vapor muito corrosivo por inalação; as soluções diluídas são irritantes para os olhos e pele; risco de queimaduras e dermite.	Em caso de incêndio pode libertar vapores tóxicos. Não combustível. Muitas reacções podem causar incêndio ou explosão. Diluição com água gera calor e pode haver projecções ou ebulição. Deitar sempre o ácido na água, **nunca a água no ácido.**	No caso de contacto com os olhos lavar imediatamente e consultar um médico; no caso de contacto cutâneo lavar imediatamente e tirar a roupa contaminada. Utilizar luvas de borracha nitrilo e protecção ocular e facial. **Evitar qualquer contacto com substâncias inflamáveis.**	Oxidante e desidratante poderoso, reage violentamente com muitos reagentes incluindo compostos orgânicos nitrados, permanganato de potássio, metais alcalinos e percloratos, matérias combustíveis, oxidantes, aminas, bases, água, calor excessivo e a maior parte dos metais.	Quando se acrescenta ácido concentrado a água, pode ocorrer ebulição localizada.

Ácido tricloroacético CCl_3COOH	Cristais brancos higroscópicos com odor picante; ponto de fusão 58°C ponto de ebulição 197,5°C; solúvel em água, etanol, éter etilíco.	Corrosivo; causa queimaduras graves nos olhos, pele, vias respiratórias.	Não combustível. Pode libertar vapores tóxicos em caso de incêndio.	Evitar o contacto com os olhos e a pele; utilizar luvas de borracha ou plástico e óculos de segurança para laboratório de química ou viseira com protecção respiratória. Em caso de contacto com os olhos lavar imediatamente e consultar um médico.	Reacção violeta com misturas de cobre/sulfóxido de dimetilo e ao contacto com bases, oxidantes fortes e metais como ferro, zinco, alumínio.	Armazenar num local seco. Soluções aquosas concentradas podem sofrer uma decomposição violenta.
Acroleína CH_2CHCHO	Líquido incolor ou amarelado, odor penetrante desagradável; ponto de fusão –87°C, ponto de ebulição –53°C.	Efeito lacrimogéneo. Fortemente irritante para as vias respiratórias; edema pulmonar em caso de exposição intensa. Os efeitos podem ser retardados.	Extremamente inflamável; ponto de ignição –26°C, limites de explosão 2,8–31%.	Evitar o contacto com a pele, e os olhos. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo ou com uma boa ventilação.	Oxidantes, ácidos, álcalis, amónia, aminas. Sem inibidor (normalmente hidroquinona) polimerização espontânea. Com o decorrrer do tempo, pode formar peróxidos sensíveis aos choques.	
Soluções de amoníaco	Líquido incolor, odor picante; para gás: ponto de fusão –33°C ponto de ebulição –78°C; para soluções a 25%: ponto de fusão 58°C ponto de ebulição –38°C; miscível com água.	Corrosivo para os olhos, sistema respiratório, pele e sistema digestivo em caso de ingestão; edema pulmonar em caso de exposição intensa ao gás ou vapores.	Gás de amoníaco: limites de inflamação 15–28%.	Manter o recipiente bem fechado. No caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente com água e consultar um médico. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo. Utilizar luvas de borracha ou plástico e óculos de protecção para laboratório de química.	Reage violentamente com metais pesados tais como o mercúrio e seus sais para formar compostos explosivos.	

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Anidrido acético $(CH_3CO)_2O$	Líquido incolor, odor picante e a vinagre; ponto de fusão –73°C, ponto de ebulição 139°C.	Extremamente irritante para os olhos e vias respiratórias superiores; acção corrosiva. Os efeitos podem ser retardados.	Inflamável; liberta vapores ou gases irritantes ou tóxicos em caso de incêndio; ponto de ignição 49°C, limites de explosão 2,7 –10,3%.	Nem chamas vivas nem faíscas, proibido fumar. Evitar o contacto com a pele e os olhos.	Reage violentamente com água a ferver, vapor de água, oxidantes fortes, alcoóis, aminas, bases fortes e muitos outros compostos. Em presença da água, ataca muitos metais.	
Anilina $C_6H_5NH_2$	Líquido oleaginoso, incolor a castanho, odor aminado aromático; ponto de fusão –6°C ponto de ebulição 185°C.	Cianose devido a metemoglobinemia. Irritação dos olhos e pele. Pode ser absorvida através da pele; exposição repetida ou prolongada pode causar sensibilização.	Combustível; ponto de ignição 70°C, limites de explosão 1,2–11%.	Conservar em recipientes hermeticamente fechados em áreas separadas de produtos oxidantes. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Trabalhar com exaustor ou protecção respiratória, utilizar luvas e roupa de protecção e viseira.	Oxidantes fortes, ácidos fortes.	

Auramina 4,4′-carbonimidoilbis (N,N-dimetilbenzanamina)	Escamas ou pó amarelo; ponto de fusão 136°C; insolúvel em água.	Nocivo em caso de ingestão, inalação e contacto com a pele. Pode causar irritação ocular ou cutânea. Eventualmente cancerígeno.		Evitar o contacto com a pele e a inalação de poeira. Utilizar luvas de borracha ou plástico e óculos de protecção para laboratório de química.Trabalhar em câmara de ventilação de fumo ou utilizar uma máscara contra a poeira.	Agentes oxidantes fortes.
Azida de sódio N_3Na	Sólido cristalino incolor; ponto de fusão 300°C; solúvel em água.	Muito tóxico no caso de ingestão, inalação e contacto cutâneo; pode causar queimaduras. A poeira e a solução são irritantes para os olhos e pele; pode ser absorvido através da pele.	Decomposição explosiva se aquecido para além do ponto de fusão. Liberta vapores tóxicos quando aquecido; não utilizar água para apagar o fogo.	No caso de contacto com a pele, lavar imediatamente. Não inalar a poeira. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular.	Reacções explosivas com bromo, dissulfeto de carbono, ou cloreto de cromil. No estado sólido reage com metais pesados incluindo cobre, chumbo e mercúrio para formar sais explosivos de azidas. Ao contacto com ácido, liberta um gás muito tóxico e explosivo.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Benzeno C_6H_6	Líquido volátil incolor, odor aromático característico; ponto de fusão 6°C, ponto de ebulição 80°C.	A inalação de vapores afecta o sistema nervoso central resultando em vertigens e cefaleias; em fortes concentrações, há perda de sentidos e morte. Em caso de exposição prolongada ou crónica risco de anemia aplástica, leucemia, lesões hepáticas. Pode ser absorvido através da pele.	Extremamente inflamável; ponto de ignição –11°C, limites de inflamação 1,3–8%.	Armazenar os recipientes num local bem ventilado e afastados de qualquer fonte de ignição. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo ou sob uma chaminé devidamente ventilada. Utilizar protecção ocular e luvas de borracha nitrilo ou PVC. Evitar a formação de cargas eléctricas pela ligação à terra.	Pode reagir violentamente com oxidantes incluindo ácido crómico, permanganato de potássio e oxigénio líquido.	
Benzidina 1,1′–bifenil-4,4′-diamina	Pó amarelo claro; ponto de fusão 128°C, ponto de ebulição 400°C; ligeiramente solúvel em água mas muito solúvel em ácidos e dissolventes orgânicos.	Pode ser absorvida através da pele. Risco de cancro da bexiga. Evitar qualquer exposição.	Combustível, liberta vapores ou gases tóxicos em caso de incêndio.	Evitar qualquer exposição. Utilizar protecções para os olhos e a pele. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo com ventilação por exaustor.	A sua utilização é proibida ou regulamentada em muitos países.	

Bisselenito de sódio $NaHSeO_3$	Pó cristalino incolor ou branco; solúvel em água.	Tóxico no caso de ingestão e inalação da poeira; risco possível de efeitos cumulativos. Teratogénico segundo experimentação. Contacto cutâneo prolongado pode causar dermatite.		Utilizar roupa de protecção.	Oxidantes.
Brometo de cianogéneo BrCN	Cristais incolores ou brancos com odor picante; ponto de fusão 52°C, ponto de ebulição 61°C.	Efeitos graves para os olhos, pele e sistema respiratório; inalação dos vapores pode causar edema pulmonar que pode resultar em convulsões, perda de sentidos, insuficiência respiratória e morte.	Não combustível mas por aquecimento forma um gás inflamável. Em caso de incêndio, liberta vapores ou gases irritantes ou tóxicos.	Trabalhar em sistema fechado com ventilação. Utilizar luvas e roupa de protecção, óculos de segurança, viseira ou protecção ocular combinada com protecção respiratória.	Decomposição por aquecimento ou contacto com ácidos produzindo cianeto de hidrogénio muito tóxico e inflamável e brometo de hidrogénio corrosivo. Reage com oxidantes fortes. Reage lentamente com água e humidade para produzir brometo e cianeto de hidrogénio. Ataca muitos metais em presença de água.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Bromo Br_2	Líquido fumegante de cor castanha avermelhada escura com odor picante; ponto de fusão –7,2°C, ponto de ebulição 58,8°C.	Corrosivo. Os vapores são corrosivos para os olhos e vias respiratórias; inalação pode causar edema pulmonar e efeitos sobre o sistema nervoso central. Contacto com os olhos pode resultar em visão enevoada, vermelhidão, dores e graves queimaduras dos tecidos.	Não é combustível mas facilita a combustão de outras substâncias. Muitas reacções podem resultar em incêndios ou explosões. O aquecimento pode provocar um aumento da pressão com riscos de queimaduras.	Utilizar em sistema fechado e com ventilação. Utilizar luvas e roupa de protecção, óculos de protecção, viseira ou protecção ocular combinada com máscara respiratória.	Oxidante forte, reage violentamente com matérias combustíveis e redutoras. Reage violentamente com soluções de amoníaco, oxidantes, metais, compostos orgânicos e fósforo.	Ataca certas formas de plástico, borracha e revestimentos.

Cianeto de sódio NaCN	Pó cristalino branco com odor de amêndoa; ponto de fusão 563°C ponto de ebulição 1496°C; muito solúvel na água.	Extremamente tóxico por ingestão, inalação e contacto cutâneo; muito irritante para os olhos. Pode ser absorvido através da pele. A exposição repetida pode afectar a tiróide.	Em caso de incêndio pode libertar vapores tóxicos.	Não inalar a poeira; utilizar protecção respiratória. Evitar o contacto com os olhos e a pele; no caso de contacto cutâneo lavar imediatamente com água e tirar a roupa contaminada. Utilizar óculos de protecção de laboratório de química e luvas de borracha ou plástico. Armazenar em local ventilado e fechado com segurança.	Liberta gás de cianeto de hidrogénio (HCN) extremamente tóxico ao contacto com ácidos ou água contendo dióxido de carbono dissolvido. Pode formar misturas explosivas com nitritos.	Tratar os derrames de soluções com hipocloreto de sódio em pó e deixar repousar durante 24 h. Varrer cuidadosamente os resíduos sólidos e deitá-los em água contendo hipocloreto de sódio; deixar repousar 24 h antes de eliminar. O laboratório deve ter um kit para tratar casos de envenenamento por cianeto.
Citochalasina (A–J)	Pó branco; ponto de fusão variável.	Tóxico em caso de ingestão, inalação ou absorção cutânea. Pode causar malformações congenitais.		Evitar o contacto com olhos, pele, roupa; utilizar óculos de protecção para laboratório de química e luvas de borracha ou plástico.	Agentes oxidantes fortes.	

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Cloro Cl_2	Gás amarelo-esverdeado com odor picante; ponto de fusão –101°C, ponto de ebulição –34°C.	Corrosivo para os olhos, pele e vias respiratórias. A inalação pode causar pneumonia e edema pulmonar, resultando na síndroma de disfunção reactiva das vias respiratórias. A evaporação rápida do líquido pode causar gangrena. Exposições fortes podem causar a morte. Possibilidade de efeitos retardados; manter sob observação médica.	Não combustível mas facilita a combustão de outras substâncias.	Trabalhar em sistema fechado e ventilado. Utilizar luvas isolantes do frio, roupa de protecção, óculos de protecção ou protecção ocular combinada com protecção respiratória.	A solução aquosa é um ácido forte, reage violentamente com bases e muitos compostos orgânicos, acetileno, butadieno, benzeno e outros produtos petroleiros, amoníaco, hidrogénio, carboneto de sódio, terebentina e metais finamente divididos com risco de incêndio e explosão.	Ataca muitos metais em presença da água. Ataca plásticos, borracha e revestimentos.

Clorofórmio $CHCl_3$	Líquido volátil incolor de odor característico; ponto de fusão –63°C, ponto de ebulição 61°C; ligeiramente solúvel em água.	Nocivo em caso de inalação, ingestão e contacto com a pele. Pode ter efeitos sobre o fígado, rins e sistema nervoso central que se traduzem por cefaleias, náuseas, icterícia ligeira, perda de apetite e narcose. Exposição prolongada ou crónica causa cancro em animais; suspeita de cancerígeno para o homem.		Utilizar roupa de protecção, luvas de borracha nitrilo e protecção ocular. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo.	Bases fortes; certos metais, como alumínio ou magnésio, pó de zinco; oxidantes fortes.	Quando aquecido decompõe-se formando gás de fosgénio. Ataca os plásticos e a borracha.
Cobre Cu	Sólido avermelhado, brilhante, maleável, inodoro; pó vermelho, vira ao verde por exposição a ar húmido; ponto de fusão 1083°C, ponto de ebulição 2567°C.	A inalação de vapores de cobre pode causar a febre dos fundidores.	Combustível.	Trabalhar com exaustor local ou protecção respiratória, luvas e óculos de protecção.	Compostos sensíveis a choques são formados com compostos acetilénicos, óxido de etileno, azidas e peróxido de hidrogénio. Reage com oxidantes fortes como cloratos, bromatos e iodatos, com risco de explosão.	

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Dimetilamina $(CH_3)_2NH$	Gás incolor liquefeito volátil com odor picante; ponto de fusão –93°C, ponto de ebulição 7°C; miscível com água.	Muito irritante para os olhos e sistema respiratório; inalação pode causar edema pulmonar. Evaporação rápida pode causar gangrena. A solução é corrosiva para os olhos e a pele.	Extremamente inflamável; ponto de ignição –26°C, limites de inflamação 2,8–14%.	Manter afastada de qualquer fonte de ignição; em caso de contacto com os olhos lavar imediatamente consultar um médico. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo. Utilizar luvas de borracha nitrilo e óculos de protecção para laboratório de química.	Pode reagir com oxidantes e mercúrio.	
2,4-dinitrofenil-hidrazina $C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$ 1-hidrazino-2,4-dinitrobenzeno	Pó cristalino vermelho alaranjado; ponto de fusão 200°C; ligeiramente solúvel em água.	Irritante para a pele e olhos. Nocivo em caso de ingestão, inalação e contacto com a pele.		Manter húmido para reduzir o risco de explosão. Utilizar máscara de respiração antipoeiras, luvas de borracha ou plástico e óculos de protecção para laboratório de química.	Pode reagir violentamente com oxidantes e redutores.	

Dioxana $C_4H_8O_2$ Dióxido de dietileno	Líquido incolor com odor característico; ponto de fusão 12°C, ponto de ebulição 101°C.	Irritante para os olhos e sistema respiratório. Pode afectar o sistema nervoso central causando cefaleia, náuseas, tosse, dores de garganta, dores abdominais, vertigens, sonolência, vómitos, perda dos sentidos. Pode ser absorvido através da pele. Lesões renais e hepáticas. Provavelmente cancerígeno para o homem.	Muito inflamável; ignição à distância possível; movimentos, agitação, etc., podem provocar a formação de cargas de electricidade estática.	Trabalhar com ventilação e exaustor local. Nada de chamas vivas e faíscas, proibição de fumar, evitar o contacto com oxidantes fortes ou superfícies quentes. Não utilizar ar comprimido para encher, esvaziar ou manusear; utilizar instrumentos que não produzam faíscas. Utilizar luvas e roupa de protecção, viseira ou protecção ocular, em combinação com protecção respiratória.	Pode formar peróxidos explosivos. Reage vigorosamente com oxidantes fortes e ácidos fortes concentrados. Tem uma reacção explosiva com certos catalisadores. Ataca muitos plásticos.
Dióxido de carbono (sólido; « gelo seco ») CO_2	Sólido branco translúcido a –79°C; sublima-se à temperatura ambiente.	Riscos de asfixia em locais fechados ou mal ventilados; o contacto com « gelo seco » provoca gangrena.		Utilizar luvas de protecção isolantes. Armazenar unicamente em locais ventilados ou num recipiente aberto.	Metais alcalinos, bases fortes.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Dióxido de cloro ClO_2	Gás amarelo a vermelho ou líquido vermelho-castanho; ponto de fusão –59°C, ponto de ebulição 10°C.	Fortemente irritante para os olhos, pele e vias respiratórias; a inalação do gás pode causar edema pulmonar. Os efeitos podem ser retardados; manter sob observação médica.	Não combustível mas facilita a combustão de outras substâncias; pode explodir com aquecimento, exposição à luz solar, ou se submetido a choques e faíscas.	Trabalhar em sistema fechado e ventilado. Utilizar luvas isolantes do frio, roupa de protecção, óculos de protecção ou protecção ocular combinada com protecção respiratória.	Oxidante forte; reage violentamente com combustíveis, redutores, fósforo, hidróxido de potássio, enxofre, amoníaco, metano, fosfina e sulfeto de hidrogénio.	
Etanol CH_3CH_2OH	Líquido volátil incolor com ligeiro odor característico; ponto de fusão –117°C, ponto de ebulição –79°C; miscível com água.	Nocivo no caso de ingestão. Irritante para os olhos. Pode afectar o sistema nervoso central.	Muito inflamável; ponto de ignição 12°C, limites de inflamação 3–19%.	Manter os recipientes bem fechados e afastados de qualquer fonte de ignição.	Reage violentamente com oxidantes fortes.	

Etanolamina $H_2NCH_2\ CH_2OH$ 2-aminoetanol	Líquido incolor, não volátil, viscoso com odor de amoníaco; ponto de fusão 10°C, ponto de ebulição 171°C; miscível com água.	Corrosivo para os olhos, sistema respiratório e pele. Pode afectar o sistema nervoso central.	Ponto de ignição 85°C.	Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular.	Reage com oxidantes fortes.
Éter dietílico $C_2H_5OC_2H_5$	Líquido incolor muito volátil com odor adocicado característico; ponto de fusão –116°C, ponto de ebulição 34°C; ligeiramente solúvel em água.	Irritante para os olhos e sistema respiratório. Pode afectar o sistema nervoso central causando sonolência e perda dos sentidos. Inalação repetida pode causar hábito.	Extremamente inflamável; ponto de ignição –45°C, limites de inflamação 1,7–48%.	Guardar os recipientes num local bem ventilado; manter afastados de fontes de ignição; ligar os recipientes à terra para evitar descargas de electricidade estática. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo. Utilizar luvas de borracha nitrilo para evitar escamação da pele.	A exposição ao ar e à luz pode resultar na formação de peróxidos explosivos. Pode reagir violentamente com oxidantes e halogéneos.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Fenol C_6H_5OH	Cristais incolores ou rosa pálido com odor característico; ponto de fusão 41,4°C ponto de ebulição 182°C; miscível com água.	Substância e vapores corrosivos para os olhos, pele e sistema respiratório causando queimaduras graves; absorvido através da pele. Perturbações do sistema nervoso central, coma. Lesões renais e hepáticas. Sintomas incluem dores abdominais, vómitos, diarreia, irritação cutânea, dores oculares. Contacto prolongado com soluções diluídas pode causar dermatite.	Ponto de ignição –80°C, limites de inflamação 1,7–6%.	Evitar a inalação de vapores; utilizar protecção respiratória. Evitar o contacto com os olhos e pele. Trabalhar em câmara de fumo. Utilizar luvas de borracha nitrilo e protecção ocular. No caso de contacto com os olhos lavar imediatamente com água e consultar um médico; no caso de contacto com a pele, remover toda a roupa contaminada e aplicar sobre a região tocada glicerol, polietileno-glicol 300 ou uma mistura de polietileno-glicol líquido (70%) e álcool desnaturado (30%), e depois lavar abundantemente com água.	Reage com oxidantes com riscos de incêndio e explosão.	

Formaldeído em solução (37–41% de formaldeído com 11–14% de metanol) HCHO	Líquido incolor com odor picante; ponto de ebulição 96°C; miscível com água.	Muito irritante para os olhos e pele, irritante para as vias respiratórias; a exposição prolongada aos vapores pode causar sintomas do tipo de asma, conjuntivite, laringite, bronquite ou broncopneumonia. Pode causar sensibilização por contacto cutâneo. Risco possível de efeitos nocivos irreversíveis. Possivelmente cancerígeno.	Ponto de ignição 50°C.	Utilizar roupa de protecção como avental plástico, luvas de borracha ou plástico, e óculos de protecção para laboratório de química. Trabalhar em câmara de ventilação de fumo ou local bem ventilado.	Pode reagir vigorosamente com oxidantes, com nitrometano para produzir produtos explosivos, com ácido clorídrico para formar um cancerígeno potente, o éter *bis* (clorometil).	As soluções concentradas de formaldeído ficam turvas quando conservadas a menos de 21°C; assim, devem ser conservadas entre 21–25°C. Soluções diluídas (1–5%) e de concentração média (5–25%) apresentam quase todos os riscos das formas concentradas.
Glutaraldeído $OHC(CH_2)_3CHO$	Solução incolor ou amarelo claro com odor picante; ponto de fusão –14°C, ponto de ebulição 189°C; miscível com água.	Fortemente irritante para os olhos e vias respiratórias superiores; exposição prolongada a inalação ou contacto cutâneo pode provocar sensibilização.		Trabalhar em câmara de ventilação de fumo ou local bem ventilado. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular.	Pode reagir vigorosamente com oxidantes.	Fornecido muitas vezes em solução aquosa de concentração variável com um aditivo para reforçar a estabilidade.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Hidróxido de potássio KOH	Escamas, pó, pastilhas ou pauzinhos brancos; ponto de fusão 360°C ponto de ebulição 1320°C; muito solúvel em água.	Corrosivo para o sistema respiratório, olhos e pele; inalação da poeira causa edema pulmonar.		No caso de contacto com os olhos lavar imediatamente com água e consultar um médico; no caso de contacto com a pele lavar imediatamente e remover toda a roupa contaminada. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular mesmo no caso de soluções diluídas.	Reage violentamente com ácidos e com nitrobenzeno e muitos outros detergentes. Liberta grande quantidade de calor quando misturado com água; guardar em recipientes bem fechados.	Ataca certos metais (alumínio, zinco, estanho) em presença de humidade.
Hidróxido de sódio NaOH	Escamas, pó, pastilhas ou paus incolores: ponto de fusão 318°C ponto de ebulição 1390°C; solúvel na água.	Muito perigoso em caso de ingestão ou de contacto com os olhos e a pele com o produto sólido ou em solução concentrada. A inalação da poeira causa lesões nas vias respiratória e edema pulmonar. Corrosivo em caso de ingestão. As soluções diluídas são irritantes para ou olhos e podem provocar lesões graves no caso de contacto ocular prolongado.	Não combustível. Em presença de humidade ou água pode gerar calor suficiente para inflamar substâncias combustíveis.	No caso de contacto com os olhos lavar imediatamente e consultar um médico; no caso de contacto cutâneo lavar imediatamente com água e tirar a roupa contaminada. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular, mesmo para trabalhar com soluções diluídas.	Liberta grandes quantidades de calor quando misturado com água. Reage vigorosamente com misturas de clorofórmio-metanol e com ácidos fortes.	Guardar em recipiente bem fechado e ao seco.

Hipocloreto de sódio (solução a 10–14% de cloro livre) NaOCl	Solução incolor ou amarelo pálido com odor de cloro; miscível com água.	Corrosivo para os olhos e pele, por ingestão e para as vias respiratórias; a inalação pode causar edema pulmonar. A exposição repetida pode causar sensibilização cutânea.	Oxidante forte. Pode libertar vapores tóxicos no caso de incêndio.	No caso de contacto com os olhos lavar imediatamente e consultar um médico; no caso de contacto cutâneo lavar imediatamente. Não inalar os vapores; utilizar protecção respiratória. Trabalhar em local bem ventilado. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular tipo laboratório de química.	Em contacto com ácidos, liberta gás extremamente tóxico. Pode reagir vigorosamente com matérias combustíveis e redutoras. Pode reagir com compostos azotados para formar compostos N-clorados explosivos; pode reagir violentamente com o metanol.	As emanações de cloro durante a armazenagem reduzem gradualmente o teor em cloro activo; as soluções diluídas utilizadas como desinfectante deterioram-se rapidamente. Guardar afastado de ácidos num local escuro, fresco e bem ventilado.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Iodo I_2	Escamas cristalinas negras azuladas com odor característico; ponto de fusão 114°C ponto de ebulição 184°C; praticamente insolúvel em água.	Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele. exposição repetida pode causar sensibilização cutânea. Pode ter efeitos sobre a tiróide.	Não combustível mas facilita a combustão de outras substâncias. Muitas reacções podem causar incêndios ou explosões. Em caso de incêndio liberta vapores (ou gases) irritantes ou tóxicos.	Não respirar os vapores; evitar o contacto com os olhos. Utilizar luvas de borracha nitrilo.	Reage violentamente com metais incluindo alumínio, potássio e sódio, e com misturas etanol/fósforo, acetileno e amoníaco.	

Mercúrio Hg	Líquido prateado muito denso; ponto de fusão –39°C ponto de ebulição 357°C; insolúvel em água.	Pode ser absorvido pela pele. Exposição repetida pode afectar os rins e o sistema nervoso central, e pode causar vómitos, diarreia, cefaleias, náuseas, inchaço das gengivas, dentes descarnados.	Não combustível. Liberta vapores irritantes ou tóxicos em caso de incêndio.	Conservar os recipientes bem fechados. Trabalhar em câmara de fumo ou local bem ventilado. Evitar derrames. Observar uma higiene rigorosa. Utilizar luvas de borracha nitrilo.	Acetileno, ácido fulminico. Reage com amoníaco, azidas e óxido de etileno para formar produtos explosivos. Reage violentamente com o bromo. Forma amálgamas com muitos metais.	Armazenar os recipientes e trabalhar sobre tabuleiros para conter os derrames; aspirar as gotas fragmentadas por meio de um pequeno frasco munido de um capilar e ligado a uma bomba; tratar as superfícies onde houve derrames com pó de zinco para formar uma amálgama.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Metanol CH_3OH	Líquido incolor e volátil com odor característico; ponto de fusão –98°C ponto de ebulição 65°C; miscível com água.	Efeitos sobre o sistema nervoso central resultando em perda dos sentidos; irritação das membranas mucosas. A exposição crónica pode causar danos à retina e nervo óptico. Contacto prolongado com a pele pode causar dermite. Pode ser absorvido através da pele.	Muito inflamável; ponto de ignição –16°C, limites de inflamação 7–37%.	Conservar os recipientes bem fechados e afastados de fontes de ignição. Evitar de respirar os vapores e contacto com a pele. Trabalhar em câmara de fumo ou local bem ventilado. Utilizar luvas de borracha ou plástico e protecção ocular.	Pode reagir vigorosamente com oxidantes. Reacções com magnésio ou bromo podem ser violentas e com oxidantes fortes ou clorofórmio com sódio podem ser explosivas.	
Naftilamina (alfa e beta) $C_{10}H_9N$ *N*-fenil-α-naftilamina e *N*-fenil-β-naftilamina.	Cristais de cor branca a rosa com odor característico; alfa: ponto de fusão 50°C ponto de ebulição 301°C; beta: ponto de fusão 113°C ponto de ebulição 306°C; pouco solúvel em água, mas o cloridrato é solúvel.	Ambos são muito tóxicos por inalação, ingestão e contacto com a pele. Cancerígenos para o homem causando cancro da bexiga. Experiência mostra propriedades mutagénicas e teratogénicas. Absorvidos através da pele.	Combustível.	Evitar qualquer exposição; utilizar roupa de protecção apropriada. Trabalhar em câmara de fumo ou sob chaminé ou com ventilação por exaustor.		Utilização proibida ou legalmente controlada em muitos países.

Niídrina $C_9H_6O_4$	Sólido amarelo claro, decompondo-se a 241°C. Fornecido em pulverizador numa solução a 0,5% em butanol; solúvel em água.	Nocivo em ingestão e inalação. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele. A exposição repetida pode causar sensibilização cutânea.	Sólido inflamável e combustível; ponto de ignição –39°C.	Evitar a inalação do aerossol ou dos vapores e o contacto com os olhos. Utilizar luvas de borracha ou plástico e óculos de protecção para laboratório de química.		O contacto com a pele produz uma marca violeta persistente.
Nitrato de prata $AgNO_3$	Cristais brancos; ponto de fusão 212°C ponto de ebulição 444°C; solúvel na água.	Pode causar irritação forte e queimaduras graves aos olhos e pele. Corrosivo em caso de ingestão. Pode causar uma coloração cutânea vermelha-azulada no caso de exposição prolongada ou repetida (argiria).	Não é combustível mas facilita a combustão de outras substâncias.	Evitar a dispersão da poeira. Respeitar uma higiene rigorosa. Utilizar luvas de borracha ou plástico e viseira ou protecção ocular juntamente com protecção respiratória. No caso de contacto com os olhos, lavar com água e consultar um médico.	Soluções amoniacais podem formar um precipitado explosivo de nitrito de prata na presença de base ou glucose. Pode formar produtos explosivos com etanol e causar polimerização explosiva com acrilonitrilo. Risco de ignição de explosão se misturado com carvão, magnésio, fósforo ou enxofre.	

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Nitrobenzeno $C_6H_5NO_2$	Líquido oleoso amarelo claro com odor característico; ponto de fusão 6°C ponto de ebulição 211°C.	Metemoglobinemia com cianose, lesões hepáticas; sintomas incluem lábios, unhas e pele que ficam de cor azulada, vertigens, náuseas, fraqueza, perda de sentidos. Absorvido através da pele.	Combustível; risco de incêndio e explosão; ponto de ignição –88°C.	Trabalhar com ventilação, exaustor local ou protecção respiratória. Utilizar luvas e roupa de protecção e óculos de protecção.	A combustão liberta vapores corrosivos incluindo óxidos de azoto. Reage violentamente com oxidantes fortes e redutores, com riscos de incêndio e explosão. Ataca muitos plásticos. Forma substâncias ou misturas explosivas (termicamente instáveis) com muitos compostos orgânicos e inorgânicos.	
Oxigénio O_2	Gás incolor comprimido; ponto de fusão –218,4°C ponto de ebulição –183°C.	Em fortes concentrações irritante para o sistema respiratório.	Não combustível mas facilita a combustão de outras substâncias. O aquecimento faz aumentar a pressão no recipiente com risco de rotura.	Nada de chamas vivas, faíscas, proibição de fumar, evitar o contacto com substâncias inflamáveis.	Forte oxidante, reage com matérias combustíveis e redutoras com riscos de incêndio e explosão. Reage com óleos, gorduras, hidrogénio e líquidos, sólidos e gases inflamáveis.	

Pentóxido de fósforo P_2O_5	Cristais brancos higroscópicos ou pó branco; ponto de fusão 340°C ponto de sublimação 360°C.	Corrosivo para os olhos, pele, sistema respiratório provocando dores de garganta, tosse, sensação de queimadura, dificuldades respiratórias; risco de queimaduras cutâneas, dores, bolhas, queimaduras oculares. Inalação pode causar edema pulmonar. Ingestão pode provocar contracções abdominais, sensação de queimadura, diarreia, dores de garganta, vómitos.	Não combustível mas facilita a combustão de outras substâncias. Muitas reacções podem causar incêndio ou explosão. Liberta vapores (ou gases) tóxicos em caso de incêndio.	Trabalhar com exaustor local. Utilizar luvas e roupa de protecção, viseira ou protecção ocular com protecção respiratória.	A solução aquosa é um ácido forte; reage violentamente com bases e é corrosivo. Reage violentamente com o ácido perclórico com risco de incêndio e explosão. Reage violentamente com água dando ácido fosfórico. Em presença de água, ataca muitos metais.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Permanganato de potássio $KMnO_4$	Cristais violeta; ponto de fusão 240°C (decomposição); facilmente solúvel em água.	Corrosivo em caso de ingestão ou inalação da poeira. Extremamente irritante para os olhos e sistema respiratório. Inalação da poeira pode causar edema pulmonar.	Oxidante forte; pode inflamar matérias combustíveis.	Utilizar roupa de protecção, protecção ocular e uma máscara munida de filtro de partículas se houver produção de poeira.	Reage violentamente ou de maneira explosiva se misturado com uma grande variedade de compostos inorgânicos e orgânicos ou metais triturados.	
Peróxido de hidrogénio H_2O_2	Líquido incolor; ponto de fusão –39°C (70%), ponto de ebulição 125°C (70%); miscível com água, fornecido em solução aquosa com várias concentrações.	Corrosivo a forte concentração (60%), e a baixa concentração (6%) se o contacto com a pele for prolongado. As soluções diluídas são irritantes para os olhos, vias respiratórias e pele.	Oxidante; risco de incêndio no caso de contacto com matéria combustível.	No caso de contacto com a pele, lavar imediatamente com muita água. Utilizar luvas de borracha nitrilo e protecção ocular se a concentração excede 20%.	Reage violentamente com diversas substâncias químicas incluindo oxidantes e bases. Ataca a maior parte dos metais ou seus sais, líquidos inflamáveis e outras matérias combustíveis (papel, têxteis), anilina e nitrometano.	Pode decompor-se libertando oxigénio, provocando o aumento da pressão no recipiente. Armazenar num local fresco e ao abrigo da luz. Não utilizar recipientes ou equipamento metálico, p.e. latão, cobre, ferro.

Piridina C_5H_5N	Líquido incolor com odor característico; ponto de fusão 42°C ponto de ebulição 115°C.	Afecta o sistema nervoso central provocando vertigens, cefaleias, náuseas, dificuldades respiratórias, perda de sentidos. Pode ser absorvido através da pele causando vermelhidão e uma sensação de queimadura. Ingestão causa dores abdominais, diarreia, vómitos, fraqueza. Exposição repetida provoca problemas hepáticos e renais.	Muito inflamável; ponto de ignição –20°C, limites de explosão 1,8–12,4%. Liberta vapores (ou gases) irritantes ou tóxicos em caso de incêndio. As misturas ar/vapor são explosivas.	Trabalhar com ventilação, exaustor local ou protecção respiratória; utilizar luvas e roupa de protecção.	Reage violentamente com oxidantes e ácidos fortes.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Prata Ag	Metal branco escurecendo em exposição ao ozono, sulfeto de hidrogénio ou enxofre; ponto de fusão 170–217°C ponto de ebulição 685°C.	A inalação de grandes quantidades de vapores de prata pode causar lesões nos pulmões com edema pulmonar. No caso de exposição prolongada ou repetida (argiria) pode causar uma coloração cinzenta-azul dos olhos, nariz, garganta e pele.	Não é combustível excepto sob a forma de pó.	Trabalhar com exaustor local. Utilizar luvas e óculos de protecção ou protecção ocular com protecção respiratória para poeiras ou fumos.	Incompatível com acetileno, compostos de amónio, ácido oxálico e ácido tartárico.	
Propanol-2 $(CH_3)_2CHOH$ Isopropanol	Líquido incolor com odor alcoólico; ponto de fusão –89°C ponto de ebulição 82°C; miscível com água.	Irritante para os olhos e sistema respiratório. Pode afectar o sistema nervoso central causando cefaleias, vertigens, náuseas, vómitos e coma.	Muito inflamável; ponto de ignição –112°C, limites de inflamação 2,3–12,7%.	Manter o recipiente bem fechado e afastado de qualquer fonte de ignição. Trabalhar em câmara de fumo. Utilizar luvas de borracha nitrilo e protecção ocular.	Pode reagir vigorosamente com oxidantes para formar peróxidos instáveis no caso de exposição prolongada ao ar e à luz.	A solução aquosa de propanol-2 a 70–85% utilizada como desinfectante em aerossol continua a apresentar um risco de inflamação e não deve ser utilizada perto de fontes de ignição.

Selénio Se	Sólido inodoro presente sob diversas formas: sólido amorfo de vermelho escuro-castanho a azul-escuro, ou cristais de cor vermelha transparentes ou cinzento metálico a preto; ponto de fusão 170–217°C ponto de ebulição 685°C.	Irritante para a pele e os olhos. A inalação de poeira pode causar edema pulmonar. A exposição repetida pode causar perda de unhas, distúrbios gastrintestinais.	Combustível. Liberta vapores (ou gases) irritantes ou tóxicos em caso de incêndio.	Evitar a dispersão da poeira. Respeitar uma higiene rigorosa. Trabalhar com exaustor local. Utilizar luvas, roupa e óculos de protecção.	Reage violentamente com oxidantes e ácidos fortes. Reage com a água a 50°C formando hidrogénio inflamável e ácidos de selénio. Reage com incandescência por aquecimento brando na presença de fósforo e metais como níquel, potássio, platina, sódio e zinco.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Sulfeto de hidrogénio H_2S	Gás incolor com odor forte a ovos estragados; ponto de fusão –60°C ponto de ebulição –85°C.	Pode afectar o sistema nervoso central causando cefaleia, vertigens, tosse, dores de garganta, náuseas, dificuldades respiratórias, sonolência, vómitos, perda dos sentidos e morte. A inalação pode causar edema pulmonar. A nível dos olhos, vermelhidão, dores, queimaduras graves e profundas.	Extremamente inflamável; limites de explosão 4,3–46%.	Trabalhar com ventilação com exaustor local. utilizar óculos de protecção especiais ou protecção ocular juntamente com protecção respiratória.	Oxidantes fortes e ácido nítrico concentrado. Ataca muitos metais e plásticos.	O odor emanado torna-se rapidamente saturado e não serve para prevenir da presença contínua do gás.
Telurite de potássio K_2TeO_3	Cristais brancos deliquescentes; muito solúvel em água.	Tóxico por ingestão e inalação de poeira. Irritante para a pele e olhos.		Utilizar roupa de protecção.		

Tetracloreto de carbono CCl_4	Líquido incolor com odor de éter característico; ponto de fusão –23°C, ponto de ebulição 76,5°C.	Pode ser absorvido através da pele; pode causar dermatite no caso de exposição prolongada. Irritação ocular. Pode causar lesões hepáticas e renais e distúrbios no sistema nervoso central que se traduzem por cefaleias, náuseas, icterícia ligeira, perda de apetite e narcose. Cancerígeno para animais.	Não combustível. Em caso de incêndio liberta vapores ou gases irritantes ou tóxicos.	Evitar qualquer contacto. Trabalhar com ventilação, exaustor local ou protecção respiratória; utilizar luvas de borracha nitrilo e roupa de protecção, viseira ou protecção ocular completada com protecção respiratória.	Ao contacto de superfícies quentes ou chamas, decompõe-se formando vapores e gases tóxicos e corrosivos (cloreto de hidrogénio, cloro, fosgénio). Reage com certos metais como alumínio, magnésio, zinco.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Tetra-hidrofurano C_4H_8O Óxido de dietileno Óxido de tetrametileno	Líquido incolor com odor característico; ponto de fusão –108,5°C ponto de ebulição 66°C.	Depressão do sistema nervoso central causando narcose. Irritante para os olhos, pele e sistema respiratório.	Muito inflamável; pode formar peróxidos explosivos; ponto de ignição –14°C. A água pode ser ineficaz para combater fogos implicando tetra-hidrofurano, mas pode ser utilizada para arrefecer os recipientes expostos ao fogo.	Trabalhar com ventilação, exaustor local ou protecção respiratória, luvas e óculos de protecção.	Reage violentamente com oxidantes e bases fortes, e certos haletos metálicos, com risco de incêndio e explosão. Ataca certas formas de plástico, borracha e revestimentos. O tetra-hidrofurano pode se polimerizar na presença de iniciadores catiónicos. Refluxo com hidróxido de cálcio pode provocar explosões.	

Tetróxido de ósmio OsO_4	Cristais amarelo claro com odor picante; ponto de fusão 40°C ponto de ebulição 130°C; sublima-se abaixo do seu ponto de ebulição; solúvel em água.	Muito tóxico por inalação, ingestão e contacto cutâneo, causando queimaduras graves e irritação. No estado de vapor, sólido e em soluções é corrosivo para a pele e o sistema respiratório. A inalação pode causar edema pulmonar.	Oxidante forte. Não combustível mas favorece a combustão de outras substâncias.	Conservar os recipientes bem fechados num local bem ventilado. Trabalhar com o sólido e soluções em câmara de fumo ou sob chaminé. Utilizar óculos de protecção para laboratório de química e luvas de protecção. Para preparar soluções introduzir a ampola fechada no volume de água desejado, tapar e agitar até partir a ampola.	
o-tolidina $(C_6H_3\text{-}(3CH_3)\text{-}(4NH_2))_2$ 3,3′-dimetil-(1,1′-bifenil)-4,4′-diamina	Cristais incolores; ponto de fusão 131°C ponto de ebulição 200°C; pouco solúvel na água.	Nocivo em caso de contacto ou ingestão. A poeira é irritante para o sistema respiratório e olhos. Provavelmente cancerígeno para o homem.	Combustível. Em caso de incêndio, liberta vapores (ou gases) irritantes ou tóxicos.	Evitar qualquer contacto; utilizar protecção ocular e luvas.	Oxidantes.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Tolueno C_7H_8 Metilbenzeno	Líquido incolor com odor característico; ponto de fusão –95°C ponto de ebulição 111°C; não miscível com água.	Depressão do sistema nervoso central. Irritação dos olhos, membranas mucosas, pele. A exposição repetida pode ter efeitos tóxicos sobre a reprodução e o desenvolvimento humano.	Muito inflamável; o vapor pode causar fogo instantâneo; ponto de ignição 4°C, limites de inflamação 1,4–7%. Meios de extinção de um pequeno incêndio: produtos químicos secos, anidrido carbónico, espuma, vaporização com água ou gás inerte (azoto).	Manter o recipiente bem fechado e afastado de fontes de ignição; ligar os recipientes à terra para evitar descargas de electricidade estática. Não inalar o vapor; utilizar protecção respiratória. Trabalhar em câmara de fumo ou em local bem ventilado. Utilizar luvas de borracha nitrilo.	Pode reagir com ácidos fortes, bases e oxidantes.	

Tricloroetileno $CHClCCl_2$	Líquido incolor com odor característico; ponto de fusão –73°C ponto de ebulição 87°C.	Irritante para os olhos e pele; a exposição prolongada pode causar dermatite e afectar o sistema nervoso central resultando em perda de memória. Pode afectar o fígado e os rins. Provavelmente cancerígeno para o homem.	Combustível sob certas condições.	Trabalhar com ventilação ou exaustor local. Utilizar luvas, óculos de segurança ou outro tipo de protecção ocular com protecção respiratória.	Ao contacto de superfícies quentes ou chamas, decompõe-se formando gases tóxicos e corrosivos (fosgénio, cloreto de hidrogénio). Decomposição ao contacto de bases alcalinas fortes produzindo dicloroacetileno; reage violentamente com metais em pó como alumínio, bário, magnésio e titânio; decomposição lenta à luz na presença de humidade, com formação de ácido clorídrico.

PRODUTO QUÍMICO	PROPRIEDADES FÍSICAS	RISCOS PARA A SAÚDE	RISCO DE INCÊNDIO	PRECAUÇÕES A TOMAR	PRODUTOS QUÍMICOS INCOMPATÍVEIS	OUTROS RISCOS
Xileno (mistura de isómeros) $C_6H_4(CH_3)_2$ Dimetilbenzeno	Líquido incolor com odor aromático; ponto de fusão –95 a –13°C ponto de ebulição 136–145°C; não solúvel na água.	Pode afectar o sistema nervoso central resultando em cefaleias, vertigens, fadiga e náuseas. Líquido e vapor irritantes para os olhos, pele, membranas mucosas, sistema respiratório. Nocivo em caso de ingestão. Contacto cutâneo prolongado pode provocar secura da pele. Insuficiência neurológica não específica. Exposição pode reforçar lesões auditivas provocadas por exposição a barulho. A experimentação animal sugere efeitos indesejáveis para a reprodução e o desenvolvimento humanos.	Líquido inflamável; ponto de ignição 27–32°C.	Evitar o contacto com os olhos, utilizar luvas de borracha nitrilo e protecção ocular. Manter o recipiente hermeticamente fechado e afastado de fontes de ignição.		Pode conter etilbenzeno como impureza. O etilbenzeno é possivelmente cancerígeno para o homem.

Índice remissivo

Depuis sa première édition publiée il y a plus de vingt ans en 1984, le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* est toujours le guide pratique auquel les laboratoires de tous niveaux se réfèrent en matière de sécurité biologique. Une bonne technique microbiologique et une utilisation judicieuse des équipements de sécurité par un personnel convenablement formé sont toujours des éléments fondamentaux de la sécurité biologique en laboratoire. Cela étant, la mondialisation, les progrès importants réalisés par la technologie, l'apparition de maladies nouvelles et les sérieuses menaces que représentent les agents ou les toxines microbiologiques détournés de leur usage normal et délibérément introduits dans l'environnement, appellent un réexamen des techniques actuellement utilisées dans les laboratoires. C'est pourquoi le manuel a été largement remanié et développé à l'occasion de cette nouvelle édition.

Le manuel aborde maintenant la question de l'évaluation du risque et les règles de sécurité à observer dans la mise en œuvre des technologies de recombinaison de l'ADN ; en outre, il propose un certain nombre de principes directeurs pour la mise en service des laboratoires et leur agrément. Les différents concepts de la sécurité biologique sont exposés, de même que la réglementation internationale la plus récente relative au transport des substances infectieuses. Diverses considérations de sécurité biologique applicables aux laboratoires des établissements de soins, qui figuraient dans d'autres publications de l'OMS, sont également reprises dans le manuel.

Le manuel devrait continuer à être, pour les pays, un encouragement à mettre en œuvre des programmes de sécurité biologique ainsi que des codes nationaux de bonnes pratiques pour la manipulation, dans de bonnes conditions de sécurité, de matériels biologiques potentiellement infectieux.

ISBN 92 4 254650 X

MANUEL DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE EN LABORATOIRE

Troisième édition

Organisation mondiale de la Santé

MANUEL DE SÉCURITE BIOLOGIQUE EN LABORATOIRE

Troisième Edition

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ
Genève
2005

Table des matières

Avant-propos

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a pris conscience depuis longtemps que la sécurité, et en particulier la sécurité biologique, constitue une question importante au plan international. L'OMS a en effet publié la première édition de son *Manuel de sécurité biologique* dès 1984. Ce manuel a constitué, pour les pays, une incitation à accepter et à appliquer les concepts de base de la sécurité biologique et à mettre au point des recueils nationaux de directives pratiques ou codes de bonnes pratiques destinés aux laboratoires de leur territoire où sont manipulés des micro-organismes pathogènes. Depuis cette époque, de nombreux pays se sont inspirés des indications du manuel pour élaborer ces recueils ou codes. Une deuxième édition en a été publiée en 1997.

En publiant cette troisième édition du manuel, consacrée aux questions de sûreté et de sécurité biologiques qui se posent à nous en ce troisième millénaire, l'OMS continue de jouer un rôle pilote dans le domaine de la sécurité biologique au niveau international. Dans la présente édition, l'importance d'une attitude responsable du personnel est constamment soulignée. De nouveaux chapitres ont été ajoutés; ils portent sur l'évaluation du risque, les mesures de sécurité dans la mise en œuvre de techniques utilisant de l'ADN recombinant et le transport d'échantillons biologiques infectieux. Des événements récents ont mis en lumière les nouvelles menaces que l'on pourrait faire peser sur la santé publique en détournant délibérément des agents ou des toxines biologiques de leur usage normal pour les libérer dans l'environnement. La troisième édition constitue donc également une introduction à la notion de sûreté biologique – notamment en ce qui concerne la protection des ressources biologiques contre le vol, la perte ou le détournement de ces agents qui pourraient déboucher sur une utilisation à mauvais escient dommageable pour la santé publique. Le nouveau manuel contient également des informations de nature sécuritaire tirées d'une publication de l'OMS intitulée *Safety in health care laboratories* (*1*).

Cette troisième édition du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* constituera un ouvrage de référence et un guide utile aux pays désireux de s'attaquer à la tâche difficile que représentent l'élaboration et l'établissement de recueils nationaux de directives pratiques ou de codes de bonnes pratiques, pour une sécurisation des

ressources microbiologiques qui n'entrave pas leur utilisation en clinique, dans la recherche et en épidémiologie.

Dr A. Asamoah-Baah
Sous-directeur général
Maladies transmissibles
Organisation mondiale de la Santé
Genève, Suisse

Remerciements

Nous sommes très reconnaissants aux personnes dont les noms suivent et dont les compétences nous ont été précieuses pour la préparation de cette troisième édition du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* :

Dr W. Emmett Barkley, Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD, Etats-Unis d'Amérique

Dr Murray L. Cohen, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique (retraité)

Dr Ingegerd Kallings, Institut suédois pour la lutte contre les maladies infectieuses, Stockholm, Suède

Mme Mary Ellen Kennedy, Consultante en sécurité biologique, Ashton, Ontario, Canada

Mme Margery Kennett, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australie (retraitée)

Dr Richard Knudsen, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique

Dr Nicoletta Previsani, Programme de sécurité biologique, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse

Dr Jonathan Richmond, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique (retraité)

Dr Syed A. Sattar, Faculté de Médecine, Université d'Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada

Dr Deborah E. Wilson, Division of Occupational Health and Safety, Office of Research Services, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Washington, DC, Etats-Unis d'Amérique

Dr Riccardo Wittek, Institut de biologie animale, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

Nous exprimons également notre gratitude aux personnes suivantes pour l'aide qu'elles nous ont apportée :

Mme Maureen Best, Bureau de la sécurité des laboratoires, Santé Canada, Ottawa, Canada

Dr Mike Catton, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australie

Dr Shanna Nesby, Office of Health and Safety, Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique

Dr Stefan Wagener, Canadian Science Centre for Human and Animal Health, Winnipeg, Canada

Les auteurs et les membres du comité de lecture souhaitent également exprimer leur gratitude aux nombreux spécialistes qui ont contribué à la première et à la seconde édition du présent manuel ainsi qu'à la rédaction de la publication de l'OMS intitulée *Safety in health-care laboratories* (1997) (*1*).

1. Principes généraux

Introduction

Dans tout le manuel, il est fait référence au danger relatif que représentent les micro-organismes infectieux au moyen d'une classification par groupe de risque (groupes de risque de l'OMS 1, 2, 3 et 4). **Cette classification par groupe de risque n'est applicable qu'aux travaux de laboratoire.** Ces groupes de risque sont explicités dans le tableau 1.

Tableau 1. ***Classification des micro-organismes infectieux par groupe de risque***

Groupe de risque 1 (*risque faible ou nul pour les individus ou la collectivité*)
Micro-organisme qui, selon toute probabilité, ne peut causer de maladie humaine ou animale.

Groupe de risque 2 (*risque modéré pour les individus, faible pour la collectivité*)
Germe pathogène capable de provoquer une maladie humaine ou animale mais qui ne présente vraisemblablement pas un sérieux danger pour le personnel de laboratoire , la collectivité, le bétail ou l'environnement. Une exposition en laboratoire est susceptible d'entraîner une infection grave, mais qui peut être traitée ou prévenue efficacement; par ailleurs le risque de propagation de l'infection est limité.

Groupe de risque 3 (*risque important pour les individus, faible pour la collectivité*)
Germe pathogène qui cause habituellement une grave maladie humaine ou animale, mais qui ne se transmet généralement pas d'un individu à l'autre. Il existe un traitement et des mesures préventives efficaces.

Groupe de risque 4 (*risque important pour les individus comme pour la collectivité*)
Germe pathogène qui cause habituellement une grave maladie humaine ou animale et peut se transmettre facilement d'un individu à l'autre, soit directement, soit indirectement. Il n'existe généralement ni traitement, ni mesures préventives efficaces.

Les laboratoires sont désignés comme suit : laboratoire de base – sécurité biologique niveau 1, laboratoire de base – sécurité biologique niveau 2, laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 3, laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4. Le niveau de sécurité biologique est un indice composite basé sur le type d'organisation, le mode de construction, les moyens de confinement et l'appareillage du laboratoire ainsi que sur les pratiques et modes opératoires à observer pour travailler sur des agents appartenant aux divers groupes

Tableau 2. ***Rapport entre groupe de risque et niveau de sécurité biologique, pratiques et appareillage***

GROUPE DE RISQUE	NIVEAU DE SÉCURITÉ	TYPE DE LABORATOIRE	PRATIQUES DE PABORATOIRE	APPAREILLAGE DE SÉCURITÉ
1	De base – niveau de sécurité biologique 1	Enseignement de base	BTM	Aucun; paillasse sans protection
2	De base – niveau de sécurité biologique 2	Services de santé primaires; laboratoire d'analyses ou de recherche	BTM et vêtements protecteurs, logo de risque biologique	Paillasse sans protection et ESB contre le risque d'aérosols
3	Confinement – niveau de sécurité biologique 3	Diagnostic spécialisé, recherche	Comme niveau 2, plus vêtements spéciaux, accès réglementé et flux d'air dirigé	ESB ou autres moyens de confinement primaire pour l'ensemble des activités
4	Confinement à haute sécurité – niveau de sécurité biologique 4	Manipulation de germes pathogènes dangereux	Comme niveau 3, plus sas à air à l'entrée, douche à la sortie et élimination spécifique des déchets	ESB classe III ou combinaisons pressurisées utilisées avec une ESB classe II , autoclave à deux portes formant sas mural, air filtré

BTM, bonnes techniques microbiologiques; ESB, enceinte de sécurité biologique (voir Partie IV).

de risque. Le tableau 2 indique le rapport entre groupe de risque et niveau de sécurité biologique, **mais il n'assimile pas** les groupes de risque au niveau de sécurité biologique des laboratoires conçus pour travailler sur des micro-organismes appartenant à ces groupes.

Chaque pays ou région devra établir une classification nationale ou régionale, par groupe de risque, des micro-organismes. Cette classification devra reposer sur les critères suivants :

1. Pathogénicité du germe.
2. Mode de transmission et gamme d'hôtes, qui peuvent dépendre de l'état immunitaire de la population locale, de la densité et de la mobilité des hôtes, de la présence de vecteurs appropriés et du niveau d'hygiène de l'environnement.

Tableau 3. ***Normes applicables aux différents niveaux de sécurité biologique***

	NIVEAU DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE			
	1	2	3	4
Isolement du laboratoire[a]	Non	Non	Oui	Oui
Salle étanche pour décontamination	Non	Non	Oui	Oui
Ventilation :				
— circulation vers l'intérieur	Non	Souhaitable	Oui	Oui
— système de ventilation régulé	Non	Souhaitable	Oui	Oui
— filtre HEPA sur la sortie d'air	Non	Non	Oui/Non[b]	Oui
Double porte d'entrée	Non	Non	Oui	Oui
Sas à air	Non	Non	Non	Oui
Sas à air avec douche	Non	Non	Non	Oui
Vestibule	Non	Non	Oui	–
Vestibule avec douche	Non	Non	Oui/Non[c]	Non
Traitement des effluents	Non	Non	Oui/Non[c]	Oui
Autoclave :				
— sur place	Non	Souhaitable	Oui	Oui
— dans une salle du laboratoire	Non	Non	Souhaitable	Oui
— à deux portes formant sas	Non	Non	Souhaitable	Oui
Enceinte de sécurité biologique	Non	Souhaitable	Oui	Oui
Système de surveillance de la sécurité du personnel[d]	Non	Non	Souhaitable	Oui

[a] Isolement environnemental et fonctionnel par rapport aux points de passage
[b] Selon la situation de la sortie d'air (voir chapitre 4)
[c] Selon le ou les agents qui sont manipulés
[d] Par exemple, fenêtre, télévision en circuit fermé, émetteur-récepteur

3. Possibilité de prendre localement des mesures préventives efficaces, lesquelles peuvent comprendre : une prophylaxie par vaccination ou administration d'immunsérums (immunisation passive), des mesures sanitaires concernant par exemple l'hygiène des aliments et de l'eau, l'élimination des réservoirs animaux ou des arthropodes vecteurs.
4. Possibilité de dispenser localement un traitement efficace : immunisation passive, vaccination post-exposition, utilisation d'anti-infectieux et d'agents chimiothérapiques ou antiviraux, sans négliger le risque d'apparition de souches pharmacorésistantes.

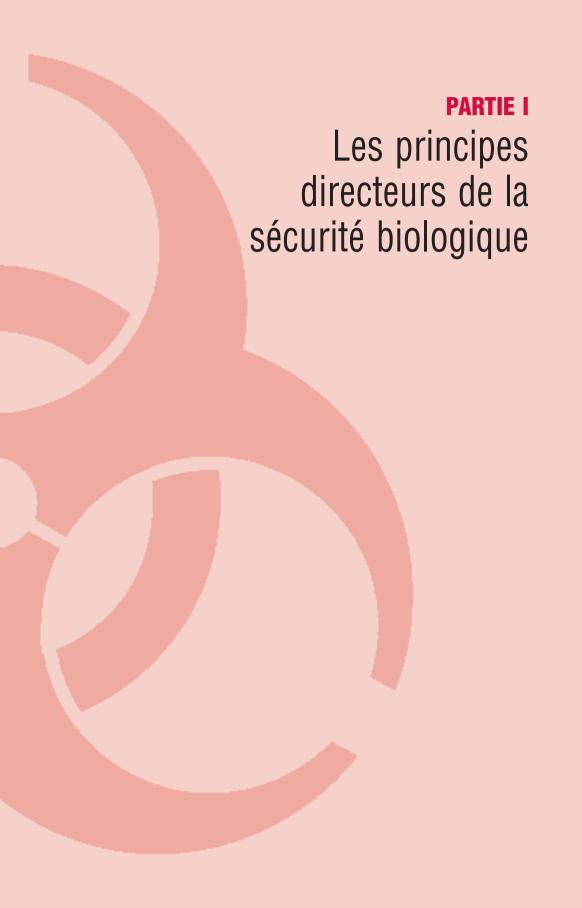
Pour déterminer quel niveau de sécurité biologique en laboratoire s'applique à un agent donné, il faut procéder à une évaluation du risque. Pour cela, on doit prendre en compte non seulement le groupe de risque, mais aussi un certain nombre d'autres facteurs. Par exemple, un agent inclus dans le groupe de risque 2 nécessite généralement une installation, un appareillage, des pratiques et des modes opératoires correspondant au niveau de sécurité 2 si l'on veut que le travail s'effectue avec le minimum de risques. Par contre, si certaines manipulations impliquent la production d'aérosols très concentrés, il vaudra mieux passer au niveau 3 pour que les conditions

de sécurité soient remplies, car à ce niveau, un meilleur confinement des aérosols sera assuré dans le laboratoire. La détermination du niveau de sécurité biologique exigé par une manipulation donnée consiste donc à apprécier le risque « en professionnel », plutôt qu'à adopter automatiquement le niveau de sécurité correspondant au groupe de risque auquel appartient l'agent pathogène en cause (voir chapitre 2).

Le tableau 3 récapitule les installations et moyens nécessaires à chaque niveau de sécurité biologique.

Pour déterminer le niveau de sécurité biologique, on prend donc en compte le micro-organisme (agent pathogène), les installations et moyens existants ainsi que les pratiques et les modes opératoires à respecter pour que le travail de laboratoire s'effectue dans de bonnes conditions de sécurité.

PARTIE I

Les principes directeurs de la sécurité biologique

2. Evaluation du risque microbiologique

Dans sa pratique, la sécurité biologique repose essentiellement sur une évaluation du risque. On peut s'aider de nombreux outils pour procéder à cette évaluation, mais le facteur le plus important reste le jugement professionnel. L'évaluation du risque doit être confiée à ceux qui connaissent le mieux les caractéristiques des micro-organismes sur lesquels on se propose de travailler, l'appareillage et les modes opératoires à mettre en œuvre, les modèles animaux qui pourraient être utilisés ainsi que les systèmes de confinement et les installations disponibles. Il incombe au directeur du laboratoire ou au chercheur principal de veiller à ce qu'une évaluation appropriée du risque soit effectuée en temps voulu et de collaborer étroitement avec le comité de sécurité de l'institution et le personnel chargé de la sécurité biologique pour que les équipements et les installations nécessités par les travaux envisagés soient mis à la disposition du laboratoire. Une fois le risque évalué, on procédera périodiquement à un réexamen systématique de la situation et on révisera l'évaluation si nécessaire, compte tenu d'éventuelles données nouvelles susceptibles d'avoir des incidences sur le degré de risque et de toute nouvelle information utile tirée de la littérature scientifique.

L'établissement de groupes de risque applicables aux différents agents microbiens constitue l'un des outils les plus utiles pour l'évaluation du risque microbiologique (voir chapitre 1). Toutefois, il ne suffit pas de connaître le groupe de risque auquel appartient un agent pathogène donné pour évaluer le risque effectif. D'autres éléments d'appréciation doivent également être pris en compte en tant que de besoin, à savoir :

1. La pathogénicité du germe et la dose infectieuse
2. L'issue vraisemblable d'une exposition au germe
3. Le mode de contamination naturel
4. Les autres voies ou modes de contamination résultant de manipulations en laboratoire (voie parentérale, particules aéroportées, voie digestive)
5. La stabilité du germe dans l'environnement
6. La concentration du germe et le volume de matériel biologique concentré à manipuler
7. La présence d'un hôte approprié (humain ou animal)
8. Les informations tirées de l'expérimentation animale, les rapports faisant état d'infections contractées en laboratoire ou les rapports médicaux
9. Le type d'opérations envisagées (traitement par les ultra-sons, production d'aérosols, centrifugation, etc.)

10. Toute manipulation génétique du micro-organisme susceptible d'étendre sa gamme d'hôtes ou de modifier sa sensibilité aux traitements reconnus comme efficaces (voir chapitre 16)
11. La possibilité d'intervenir localement à titre prophylactique ou curatif.

En s'appuyant sur les informations recueillies lors de l'évaluation du risque, il est possible de déterminer quel est le niveau de sécurité requis pour les travaux envisagés, de choisir les équipements de protection individuelle et d'établir des modes opératoires normalisés (MON) comportant d'autres mesures de sécurité élaborées en vue d'assurer un maximum de sécurité pendant les travaux.

Echantillons pour lesquels les informations sont limitées

La procédure décrite plus haut pour l'évaluation du risque donne satisfaction lorsqu'on dispose d'informations suffisantes. Il y a cependant des cas où l'on ne dispose pas de données suffisantes pour apprécier correctement le risque, par exemple lorsqu'on a affaire à des échantillons cliniques ou épidémiologique prélevés sur le terrain. En pareil cas, il est plus prudent de manipuler ces échantillons avec précaution.

1. Les précautions habituelles (*2*) doivent toujours être prises et des dispositifs mécaniques de protection (gants, blouses, lunettes) utilisés lors du prélèvement d'échantillons sur des malades.
2. Confinement de base – les pratiques et modes opératoires prévues au niveau de sécurité biologique 2 constituent un minimum pour la manipulation des échantillons.
3. Le transport des échantillons doit s'effectuer conformément à la réglementation nationale ou internationale.

Certaines données peuvent apporter un complément d'information utile à l'évaluation du risque que représente la manipulation de ces échantillons, à savoir :

1. Le dossier médical du malade
2. Les données épidémiologiques (statistiques de morbidité et de mortalité, mode de transmission présumé, autres données fournies par l'étude de la flambée épidémique)
3. Données relatives à l'origine géographique de l'échantillon.

Lorsqu'éclatent des flambées d'une maladie dont on ignore l'étiologie, les autorités compétentes, l'OMS ou les deux à la fois, peuvent être amenées à élaborer des directives spéciales et à les diffuser sur le réseau internet (comme cela a été le cas en 2003 lors de l'apparition du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)), le but étant d'indiquer comment préparer les échantillons pour l'expédition et de préciser à quel niveau de sécurité biologique les analyses doivent être effectuées.

Evaluation du risque et micro-organismes génétiquement modifiés

On trouvera au chapitre 16 une étude détaillée de l'évaluation du risque dans le cas d'organismes génétiquement modifiés (OGM).

3. Les laboratoires de base – Sécurité biologique niveaux 1 et 2

Aux fins du présent manuel, les indications et recommandations qu'il contient et qui constituent un minimum pour les laboratoires de tous niveaux de sécurité biologique, s'appliquent aux micro-organismes des groupes de risque 1 à 4. Si certaines précautions peuvent sembler inutiles pour quelques germes du groupe de risque 1, elles sont néanmoins souhaitables à titre d'entraînement à l'observation de bonnes techniques microbiologiques (BTM), c'est-à-dire de techniques qui assurent la sécurité. Les laboratoires d'analyses ou ceux qui sont attachés à un établissement de soins (laboratoires de santé publique, laboratoires d'analyses biologiques ou laboratoires hospitaliers) doivent tous être aménagés au minimum conformément au niveau 2 de sécurité biologique. Etant donné qu'aucun laboratoire n'a la maîtrise totale des échantillons qu'il reçoit, il n'est pas exclu que le personnel soit exposé à des micro-organismes appartenant à un groupe de risque plus élevé que prévu. Cette possibilité doit être prise en compte dans l'élaboration des politiques et des plans de sécurité. Dans certains pays, les laboratoires d'analyses biologiques sont soumis à un agrément officiel. Partout dans le monde, les précautions habituelles (2) de sécurité doivent être adoptées et observées.

Les principes directeurs applicables aux laboratoires de base – niveaux de sécurité biologique 1 et 2 exposés ici sont aussi détaillés et complets que possible car ils sont essentiels pour tout laboratoire quel que soit soit son niveau de sécurité biologique. En ce qui concerne les laboratoires de confinement – sécurité biologique niveau 3, et les laboratoires de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4, les principes directeurs exposés plus loin (chapitres 4 et 5) constituent des variantes ou des compléments des principes de base, applicables aux travaux sur des agents pathogènes particulièrement dangereux.

Code de bonnes pratiques

Ce code est une liste des méthodes et techniques de laboratoire les plus importantes pouvant constituer la base d'une bonne technique microbiologique. Dans beaucoup de laboratoires ou programmes nationaux relatifs aux laboratoires, ce code peut être utilisé pour mettre par écrit des pratiques et des modes opératoires destinés à assurer la sécurité du travail en laboratoire.

Tout laboratoire doit disposer d'un manuel ou d'un guide (manuel pratique, manuel de bonnes pratiques, guide de sécurité au laboratoire, manuel de sécurité, etc.)

dans lequel sont repertoriés les dangers effectifs et potentiels et qui indique comment procéder pour les éliminer ou du moins les réduire au minimum. Les bonnes techniques microbiologiques sont un élément essentiel de la sécurité au laboratoire. L'emploi d'équipements et d'appareils de sécurité ne sauraient s'y substituer et ne peut intervenir qu'à titre complémentaire. Les principes les plus importants sont indiqués ci-dessous.

Accès

1. Le pictogramme international de danger biologique (figure 1) doit être apposé sur les portes des salles où des micro-organismes appartenant au groupe de risque 2 ou aux groupes supérieurs sont manipulés.
2. Aucune personne étrangère au service ne doit être autorisée à pénétrer dans les zones de travail du laboratoire.
3. Les portes du laboratoire doivent rester fermées.
4. Les enfants ne doivent pas être autorisés à entrer dans les zones de travail du laboratoire.

Figure 1. ***Panneau de mise en garde à apposer sur les portes des laboratoires.***

5. Tout accès à l'animalerie doit être subordonné à une autorisation spéciale.
6. La présence dans le laboratoire d'animaux qui ne servent pas aux expérimentations doit être interdite.

Protection individuelle

1. Le port de combinaisons, blouses, sarraus ou uniformes est obligatoire pour le travail au laboratoire.
2. Le port de gants appropriés est obligatoire chaque fois qu'un geste comporte un risque de contact accidentel direct avec du sang ou autres liquides biologiques, du matériel potentiellement infectieux ou des animaux infectés. Après usage, on devra se déganter aseptiquement et se laver les mains.
3. Le personnel doit se laver les mains après avoir manipulé du matériel infectieux ou des animaux contagieux et avant de quitter le laboratoire.
4. Le port de lunettes de sécurité, d'un écran facial (visière) ou d'un autre dispositif de protection est obligatoire quand il est nécessaire d'assurer la protection des yeux ou du visage contre les projections de liquides, l'impact d'objets ou le rayonnement ultraviolet artificiel.
5. Il est interdit de porter les vêtements protecteurs hors du laboratoire, comme par exemple à la cantine, à la cafétéria, dans les bureaux, la bibliothèque, la salle du personnel ou les toilettes.
6. On ne doit pas porter de chaussures à bout ouvert dans le laboratoire.
7. Il est interdit de manger, de boire, de fumer, de se maquiller ou de manipuler des lentilles de contact dans les zones de travail du laboratoire.
8. Il est également interdit d'entreposer des aliments ou des boissons en quelque point que ce soit des zones de travail du laboratoire.
9. Les vêtements de protection qui ont été portés au laboratoire ne doivent pas être rangés dans les mêmes vestiaires ou armoires que les vêtements de ville.

Modes opératoires

1. le pipettage à la bouche est rigoureusement interdit.
2. Aucun objet ou matériel ne doit être porté à la bouche; les étiquettes ne doivent pas être humectées avec la langue.
3. Toutes les techniques mises en œuvre doivent réduire au minimum la formation d'aérosols et de gouttelettes.
4. L'emploi d'aiguilles et de seringues hypodermiques doit être limité. Elles ne doivent en aucun cas remplacer les dispositifs de pipettage ou servir à une autre fin que les injections par voie parentérale ou le prélèvement de liquides biologiques sur les animaux de laboratoire.
5. Si des liquides sont répandus accidentellement, en cas d'accident, d'exposition patente ou possible à du matériel infectieux, le chef de laboratoire doit toujours être immédiatement avisé. Les accidents et incidents survenus doivent être consignés et le rapport archivé.

6. Il est nécessaire d'établir par écrit une marche à suivre pour le nettoyage des produits de toute nature qui viendraient à être répandus.
7. Les liquides contaminés doivent être décontaminés (par voie physique ou chimique) avant d'être jetés dans le réseau d'égouts séparatif. Selon le résultat de l'évaluation du risque que représentent le ou les agents manipulés, il pourra être nécessaire de disposer d'un système de traitement des effluents.
8. Si des documents doivent sortir du laboratoire, ils devront avoir été protégés de toute contamination.

Zones de travail du laboratoire

1. Le laboratoire doit être tenu propre et en ordre et exempt de tout produit ou objet non nécessaire aux travaux.
2. Les plans de travail doivent être décontaminés s'ils ont été souillés par des produits potentiellement dangereux ainsi qu'à la fin de la journée de travail.
3. Tout les matériels, échantillons et cultures contaminés doivent être décontaminés avant d'être jetés ou nettoyés pour être réutilisés.
4. L'emballage et le transport des échantillons sont soumis à la réglementation nationale ou internationale pertinente.
5. Si les fenêtres peuvent être ouvertes, elles doivent être munies de grillages pour empêcher la pénétration des arthropodes.

Gestion de la sécurité biologique

1. Il incombe au directeur (la personne qui a la responsabilité directe du laboratoire) de faire préparer et adopter un plan de gestion de la sécurité biologique ainsi qu'un manuel pratique, un guide de laboratoire ou un guide d'hygiène et sécurité.
2. Le chef de laboratoire (qui relève directement du directeur du laboratoire) doit veiller à ce que le personnel reçoive une formation régulière en matière de sécurité au laboratoire.
3. Le personnel doit être averti des risques particuliers aux activités du laboratoire et tenu de lire le manuel. Il doit également suivre les instructions et les protocoles normalisés. Le chef de laboratoire devra s'assurer de la bonne compréhension de ces instructions. Le laboratoire doit disposer d'un exemplaire du manuel de laboratoire ou du guide d'hygiène et sécurité.
4. Il doit exister un programme de lutte contre les arthropodes et les rongeurs.
5. Si nécessaire, tous les membres du personnel doivent être examinés par un médecin, être suivis médicalement ou subir un traitement et un dossier médical doit être ouvert pour chacun d'entre eux.

Conception et aménagement du laboratoire

La conception d'un laboratoire et la définition des tâches qui lui sont assignées doivent tenir compte des situations connues pour engendrer des problèmes, notamment :

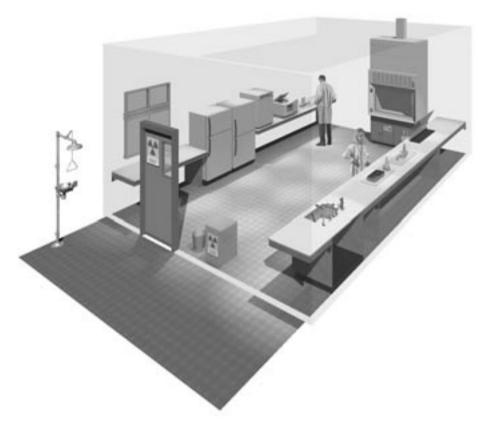



Figure 2. ***Laboratoire classique au niveau de sécurité 1.***
(figure aimablement communiquée par CUH2A, Princeton, NJ, Etats-Unis d'Amérique)

1. La formation d'aérosols
2. Le travail sur des volumes importants ou des concentrations élevées de micro-organismes
3. Un personnel ou des appareils trop nombreux eu égard à la place disponible
4. L'infestation par des rongeurs ou des arthropodes
5. Entrée interdite
6. L'ordonnancement des tâches : utilisation d'échantillons et de réactifs particuliers.

Les figures 2 et 3 donnent des exemples d'aménagement de laboratoires aux niveaux de sécurité biologique 1 et 2.

Conception d'un laboratoire

1. Le laboratoire doit être suffisamment spacieux pour qu'on puisse travailler en toute sécurité et procéder facilement au nettoyage et à la maintenance.

6. Les espaces de rangement doivent pouvoir recevoir le matériel courant, de manière à éviter l'encombrement des paillasses et des zones de passage. On prévoira également des espaces pour le stockage de longue durée, qui devront être commodément situés, hors des zones de travail.
7. On prévoira la place et les moyens matériels permettant de manipuler et d'entreposer sans danger les solvants, les substances radioactives ainsi que les gaz comprimés et liquéfiés.
8. Les vestiaires pour les vêtements de ville et les objets personnels doivent se trouver en dehors des zones de travail.
9. Les zones prévues pour se restaurer, boire ou se reposer doivent également se trouver en dehors des zones de travail.
10. On installera des lavabos, si possible avec l'eau courante, dans chaque salle du laboratoire, de préférence près de la porte.
11. Les portes doivent être munies de panneaux transparents, avoir une résistance au feu convenable et comporter de préférence un système de fermeture automatique.
12. Au niveau de sécurité biologique 2, il doit y avoir un autoclave ou autre moyen de décontamination à distance suffisamment proche du laboratoire.
13. Les systèmes de sécurité doivent couvrir les risques d'incendie, les accidents d'origine électrique et comporter une douche de sécurité ainsi qu'un rince-yeux.
14. On prévoira des zones ou des salles de premiers soins, convenablement équipées et facilement accessibles (voir annexe 1).
15. Dans le plan de toute nouvelle installation, il faudra prévoir un système de ventilation mécanique assurant un flux d'air dirigé vers l'intérieur sans recyclage. A défaut, les fenêtres doivent pouvoir s'ouvrir et être munies d'un grillage anti-arthropodes.
16. Il est indispensable que l'alimentation en eau soit fiable et de bonne qualité. Il ne doit y avoir aucune interconnexion entre les branchements destinés au travail du laboratoire et le réseau d'eau potable. Le réseau public d'adduction doit être protégé par un dispositif anti-retour.
17. L'alimentation électrique doit être fiable et de puissance suffisante; il faut prévoir un éclairage de secours permettant de sortir en cas de nécessité. Il serait souhaitable de disposer d'un groupe électrogène de secours pour l'alimentation des équipements indispensables tels qu'incubateurs, enceintes de sécurité biologique, congélateurs, etc., et pour la ventilation des cages de l'animalerie.
18. L'alimentation en gaz de ville doit être fiable et suffisante. Il est impératif d'assurer le bon entretien de cette installation.
19. Il arrive que les laboratoires et les animaleries soient la cible de vandales. L'installation de systèmes de protection physique et de sécurité anti-incendie doit être envisagée. Il est indispensable de renforcer les portes, d'équiper les fenêtres de grillages et de limiter le nombre de clés. Le cas échéant, on devra étudier et mettre en œuvre toute autre mesure susceptible d'améliorer la sécurité (voir chapitre 9).

Appareils et équipements de laboratoire

Associée à l'observation de bons protocoles et de bonnes pratiques de laboratoire, l'utilisation d'appareils sécurisés et d'équipements de sécurité permettra de réduire les risques en cas de danger de nature biologique. La présente section traite des principes de base applicables aux appareils à utiliser dans les laboratoires de tous niveaux de sécurité biologique. Les spécifications applicables aux appareils destinés à des laboratoires dont le niveau de sécurité biologique est plus élevé, sont abordées dans les chapitres consacrés à ces laboratoires.

Après consultation du comité de sécurité et du délégué à la sécurité biologique (s'il a été désigné), le directeur du laboratoire s'assurera que l'appareillage et l'équipement sont adéquats et correctement utilisés. Les appareils seront choisis en fonction d'un certain nombre de principes généraux tels que :

1. Etre conçus pour empêcher ou limiter les contacts entre l'opérateur et le matériel infectieux
2. Etre faits de matériaux imperméables aux liquides, résistants à la corrosion et conformes aux normes de solidité
3. Etre dépourvus d'aspérités, de bords tranchants et d'éléments mobiles non protégés
4. Etre conçus, réalisés et installés de façon à être faciles à utiliser, à réviser, à nettoyer, à décontaminer et à soumettre aux essais de conformité. Dans la mesure du possible, on évitera d'utiliser de la verrerie et autres matériaux fragiles.

Des spécifications détaillées portant sur la construction et les caractéristiques de fonctionnement sont parfois nécessaires pour que les appareils soient conformes aux normes de sécurité (voir également les chapitres 10 et 11).

Appareils et instruments de sécurité biologique essentiels

1. Dispositifs de pipettage, pour remplacer le pipettage à la bouche. Il en existe de nombreux modèles.
2. Enceintes de sécurité biologique, à utiliser systématiquement dans les situations suivantes :
   — manipulation de matériel infectieux. Ce matériel peut être centrifugé normalement si la centrifugeuse est munie de godets de sécurité étanches remplis et vidés dans une enceinte de sécurité biologique.
   — existence d'un risque accru d'infection aéroportée.
   — techniques comportant un risque élevé de formation d'aérosols : par exemple, centrifugation, broyage, mélange, agitation ou mixage énergiques, désagrégation par ultra-sons, ouverture de récipients contenant du matériel infectieux lorsque la pression intérieure peut être différente de la pression ambiante, inoculation intranasale d'animaux et récolte de tissus infectés sur des animaux ou des œufs.

3. Anses de transfert jetables en matière plastique. On peut aussi utiliser des incinérateurs électriques pour anses de transfert placés dans une enceinte de sécurité biologique en vue de réduire la formation d'aérosols.
4. Tubes et flacons à bouchon vissé.
5. Autoclaves ou autres dispositifs appropriés, pour décontaminer le matériel infectieux.
6. Pipettes Pasteur jetables, en plastique si possible, plutôt qu'en verre.
7. Il faut vérifier, par des essais appropriés, que les divers équipements ou appareils tels qu'autoclaves ou enceintes de sécurité biologique sont conformes aux spécifications et les recontrôler périodiquement, conformément aux instructions du fabricant (voir chapitre 7).

Surveillance médico-sanitaire

Il incombe à l'employeur, par l'entremise du directeur du laboratoire, de veiller à ce que la santé du personnel soit surveillée de façon satisfaisante. Cette surveillance a pour objectif de dépister les maladies d'origine professionnelle. Pour y parvenir, il faut :

1. Assurer l'immunisation active (vaccination) et passive du personnel lorsqu'il y a lieu (voir l'annexe 2)
2. Faciliter le dépistage précoce des infections contractées au laboratoire
3. Ne pas confier de manipulations à haut risque aux personnes particulièrement vulnérables (par ex. les femmes enceintes ou les sujets immunodéprimés)
4. Prendre des mesures de protection efficaces et veiller à l'efficacité des dispositifs de protection.

Lignes directrices pour la surveillance des travailleurs qui manipulent des micro-organismes au niveau 1 de sécurité biologique

Il apparaît, à la lumière de l'expérience passée, que les micro-organismes manipulés à ce niveau n'ont guère de chances de provoquer de maladies d'importance médicale ou vétérinaire. L'idéal serait cependant que tous les candidats à un poste dans un laboratoire passent une visite médicale d'embauche au cours de laquelle on recherchera leur antécédents médicaux. Il est souhaitable que toute pathologie ou accident de laboratoire soit signalé sans délai et que tous les membres du personnel mesurent combien il est important de maintenir la qualité des techniques microbiologiques.

Lignes directrices pour la surveillance des travailleurs qui manipulent des micro-organismes au niveau 2 de sécurité biologique

1. Une visite d'embauche s'impose avant l'affectation à un poste dans un laboratoire. Cet examen comportera une anamnèse à la recherche des antécédents médicaux et un bilan médical spécifique de l'aptitude professionnelle sera effectué.
2. La direction du laboratoire devra tenir un registre des absences et des maladies du personnel.

3. Les femmes en âge de procréer devront être informées du danger que représente, pour l'enfant à naître, l'exposition professionnelle à certains micro-organismes, comme le virus de la rubéole, par exemple. Les mesures spécifiques à prendre pour assurer la protection du fœtus varient selon la nature du germe auquel la future mère peut être exposée.

Formation

Les mesures de sécurité et les appareils et dispositifs de protection, si efficaces soient-ils, risquent toujours d'être pris en défaut par l'erreur humaine et la médiocrité de la technique. La base de la prévention des accidents, des incidents et des infections d'origine professionnelle est que le personnel se sente concerné par la sécurité et sache identifier et maîtriser les risques qui existent dans le laboratoire. C'est pourquoi la formation continue « sur le tas » aux mesures de sécurité est indispensable. Ce processus commence au niveau de la direction du laboratoire, qui doit faire en sorte que la sécurité des pratiques et des protocoles soit incorporée à la formation de base du personnel. Les mesures de sécurité doivent toujours faire partie intégrante de l'initiation des nouveaux membres du personnel au fonctionnement du laboratoire. Il faut familiariser les nouveaux employés avec les dispositions du code de bonnes pratiques et leur indiquer les directives locales et notamment leur présenter le manuel de laboratoire ou le guide d'hygiène et sécurité. Certaines mesures propres à garantir que les employés ont bien lu et compris les directives devront être prises, elles pourront par exemple consister à leur faire signer certaines pages. Le rôle des chefs de laboratoire dans la formation du personnel directement sous leurs ordres est fondamental pour l'acquisition d'une bonne technique. Le délégué à la sécurité peut aider à la formation du personnel et à l'élaboration de matériels pédagogiques et autres documents pour cette formation (voir également le chapitre 21).

La formation du personnel doit systématiquement inclure les précautions à observer lors de l'utilisation de certaines techniques particulièrement dangereuses couramment employées dans un laboratoire, à savoir :

1. Techniques comportant un risque d'inhalation (c'est-à-dire qui conduisent à la formation d'aérosols), telles que l'utilisation d'anses, l'ensemencement en stries de la gélose en boîte, le pipettage, la réalisation de frottis, l'ouverture des cultures, le prélèvement de sang ou de sérum, la centrifugation, etc.
2. Techniques comportant un risque d'ingestion, telles que la manipulation des échantillons, des frottis ou des cultures
3. Techniques comportant un risque d'inoculation percutanée, telles que l'emploi de seringues et d'aiguilles
4. Manipulation d'animaux avec le risque de morsures ou de griffures que cela comporte
5. Manipulation de sang et de matériel biologique pouvant présenter un danger
6. Décontamination et élimination des déchets infectieux.

Traitement des déchets

On entend par déchets tout ce dont on doit se débarrasser.

Dans les laboratoires, la décontamination et l'élimination définitive des déchets sont étroitement liées. Dans la pratique quotidienne, il n'y a toutefois guère de matériels contaminés qui devront être évacués hors du laboratoire ou détruits. La majeure partie de la verrerie, des instruments et des vêtements de laboratoire sera recyclée et réutilisée. Le principe essentiel, c'est que tous les matériels infectieux doivent être décontaminés, passés à l'autoclave ou incinérés dans le laboratoire.

Les principales questions qu'il faut se poser avant d'éliminer un objet ou du matériel biologique provenant d'un laboratoire qui travaille sur des microorganismes ou des tissus animaux potentiellement dangereux, sont au nombre de trois :

1. Ces objets ou ce matériel biologique ont-ils été stérilisés ou désinfectés efficacement par l'un des procédés approuvés ?
2. Dans la négative, ont-ils été emballés selon une méthode agréée en vue de leur incinération immédiate sur place ou de leur transport vers un autre établissement capable d'effectuer cette opération ?
3. L'élimination des objets ou du matériel biologique stérilisés ou désinfectés comporte-t-elle des risques supplémentaires, biologiques ou autres, pour le personnel chargé de l'élimination immédiate sur place ou pour les personnes susceptibles d'être en contact avec ces déchets en dehors du laboratoire ?

Décontamination

Le passage dans un autoclave à vapeur est la méthode de choix chaque fois que l'on doit procéder à une décontamination. Le matériel destiné à être décontaminé et éliminé sera placé dans des récipients – par exemple des sacs en plastique autoclavables – comportant le code couleur qui indique si leur contenu doit être autoclavé ou incinéré. D'autres procédés ne peuvent être envisagés que s'ils sont capables d'éliminer ou de tuer les micro-organismes (pour plus de détails, se reporter au chapitre 14).

Manipulation et élimination du matériel et des déchets contaminés

Il faut instituer un système d'identification et de tri des matériels infectieux et de leurs récipients, en respectant la réglementation nationale et internationale en la matière. Les différentes catégories sont les suivantes :

1. Déchets non contaminés (non infectieux) pouvant être réutilisés, recyclés ou jetés avec les déchets « ménagers » ordinaires
2. Objets piquants ou tranchants contaminés (infectieux) – aiguilles hypodermiques, scalpels, couteaux, verre brisé; ces objets doivent toujours être rassemblés dans des collecteurs imperforables (boîtes anti-piques) munis de couvercles et traités comme du matériel infectieux

3. Matériel contaminé destiné à être décontaminé par passage à l'autoclave, puis lavé et réutilisé ou recyclé
4. Matériel contaminé destiné à être autoclavé puis éliminé
5. Matériel contaminé destiné à être directement incinéré.

Objets pointus ou tranchants

Après usage, les aiguilles hypodermiques ne doivent pas être recapuchonnées, cassées ou désadaptées des seringues jetables. L'ensemble complet devra être placé dans un collecteur spécialement destiné à ce type d'objet. Les seringues jetables, utilisées seules ou avec une aiguille, devront être placées dans des collecteurs spéciaux pour objets pointus ou tranchants, puis incinérées, après autoclavage préalable si nécessaire.

Les collecteurs pour objets pointus ou tranchants doivent être imperforables ou du moins résistants à la perforation et ne pas être complètement remplis. Une fois remplis aux trois-quarts, ils seront placés dans d'autres conteneurs « pour déchets infectieux » et incinérés, après passage préalable à l'autoclave, si la pratique du laboratoire l'exige. Les collecteurs d'objets pointus ou tranchants ne doivent en aucun cas être jetés dans des décharges.

Matériel contaminé (potentiellement infectieux) destiné à être autoclavé et recyclé

Il ne faut tenter aucun nettoyage préalable de matériels contaminés (potentiellement infectieux) destinés à passer à l'autoclave en vue d'une réutilisation. Le nettoyage ou les réparations nécessaires ne doivent être effectués qu'après l'autoclavage ou la désinfection.

Matériel contaminé (potentiellement infectieux) destiné à être éliminé

A part les objets pointus ou tranchants dont le cas est examiné plus haut, tous les matériels contaminés (potentiellement infectieux) doivent être autoclavés dans des récipients étanches, par exemple des sacs en plastique autoclavables avec code de couleur, avant d'être éliminés. Après passage à l'autoclave, ils pourront être placés dans un conteneur pour le transport jusqu'à l'incinérateur. Autant que possible, le matériel dont les établissements de soins ou de santé se débarrassent ne doit pas être jeté dans des décharges, même une fois décontaminé. Si le laboratoire dispose d'un incinérateur sur place, on peut se dispenser du passage à l'autoclave : les déchets contaminés seront placés dans des collecteurs destinés à cet usage (sacs avec code de couleur, par exemple) et transportés directement jusqu'à l'incinérateur. Les conteneurs de transport réutilisables doivent être étanches et fermés hermétiquement. Il faudra les désinfecter et les nettoyer avant de les ramener au laboratoire et de les réutiliser.

Chaque poste de travail doit disposer de conteneurs, pots, cuvettes, bocaux etc. à déchets, de préférence incassables (en matière plastique, par exemple). Si l'on utilise un désinfectant, les déchets doivent rester en contact intime avec le produit (c'est-à-dire en évitant qu'ils soient protégés par des bulles d'air) pendant une durée suffisante,

selon la nature du désinfectant utilisé (voir chapitre 14). Les pots à déchets seront décontaminés et lavés avant d'être réutilisés.

L'incinération des déchets contaminés doit recevoir l'agrément des autorités de santé publique et de l'organisme chargé de la lutte contre la pollution atmosphérique ainsi que du délégué à la sécurité biologique désigné par le laboratoire (voir au chapitre 14 la section consacrée à l'incinération).

Sécurité chimique, électrique, incendie, radioprotection et sécurisation de l'appareillage

Un incendie, un accident d'origine chimique ou électrique ou encore une irradiation accidentelle, peuvent provoquer indirectement une solution de continuité dans le confinement des germes pathogènes. C'est pourquoi il est impératif dans tout laboratoire de microbiologie de bien respecter les règles de sécurité pour prévenir de tels accidents. Ces accidents doivent normalement faire l'objet d'une réglementation officielle émanant de l'autorité locale ou nationale compétente, dont il faut au besoin solliciter l'aide. Les risques chimiques, électriques, radiologiques et incendie sont examinés plus en détail dans la partie VI du présent manuel (chapitres 17 et 18).

Des informations complémentaires sur les équipements de sécurité sont données au chapitre 11.

4. Le laboratoire de confinement – Sécurité biologique niveau 3

Le laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 3, est conçu et prévu pour les travaux faisant intervenir des micro-organismes du groupe de risque 3 et des volumes importants ou de fortes concentrations de micro-organismes du groupe de risque 2 dont la manipulation risque davantage de provoquer la diffusion d'aérosols. Le degré de confinement qu'implique le niveau de sécurité 3 exige le renforcement des programmes de travail et de sécurité par rapport à ceux des laboratoires de base – sécurité biologique niveaux 1 et 2 (exposés au chapitre 3).

Les recommandations qui figurent dans le présent chapitre sont présentées sous la forme d'additifs à celles qui concernent les laboratoires de base – niveaux de sécurité 1 et 2, lesquelles doivent donc être appliquées avant les recommandations particulières aux laboratoires de confinement – sécurité biologique 3. Les additions et modifications les plus importantes concernent :

1. Le code de bonnes pratiques
2. La conception et l'aménagement du laboratoire
3. La surveillance médico-sanitaire.

Les laboratoires de cette catégorie doivent être homologués et répertoriés par les autorités sanitaires compétentes, nationales ou autres.

Code de bonnes pratiques

Le code de bonnes pratiques, défini pour les laboratoires de base – sécurité biologique niveaux 1 et 2, s'applique moyennant les modifications suivantes :

1. Le panneau de danger biologique (voir figure 1) apposé sur la porte du laboratoire doit indiquer le niveau de sécurité biologique et le nom du chef de laboratoire responsable de l'accès aux locaux et préciser en outre les conditions particulières d'entrée dans la zone, vaccination par exemple.
2. Les vêtements protecteurs à porter obligatoirement au laboratoire, doivent être du type suivant : tabliers, blouses, sarraus, tenues de nettoyage, combinaisons, coiffes et, le cas échéant, couvre-chaussures et chaussures spéciales. Les blouses ordinaires de laboratoire qui boutonnent devant ne conviennent pas, de même que les manches qui ne couvrent pas entièrement les avant-bras. Les vêtements de laboratoire ne doivent pas être portés à l'extérieur et seront décontaminés avant le blanchissage. Il peut être justifié d'ôter ses vêtement de ville pour revêtir une tenue

de laboratoire appropriée lorsqu'on travaille sur certains agents pathogènes (ravageurs ou agents responsables de zoonoses par exemple).
3. Tous les matériels potentiellement infectieux doivent normalement être manipulés dans une enceinte de sécurité biologique ou tout autre dispositif de confinement primaire (voir également le chapitre 10).
4. Le port d'un masque respiratoire peut être nécessaire pour certaines manipulations ou lorsque on travaille sur des animaux porteurs de certains germes pathogènes (voir chapitre 11).

Conception et aménagement du laboratoire

Les recommandations relatives à la conception et à l'aménagement des laboratoires de base – niveaux de sécurité biologique 1 et 2 s'appliquent moyennant les modifications suivantes :

1. Le laboratoire doit être séparé des zones de passage non réglementé, à l'intérieur du bâtiment. On peut compléter l'isolement en plaçant le laboratoire au fond d'un couloir sans ouverture sur l'extérieur, en construisant une cloison munie d'une porte ou encore en n'ouvrant l'accès que par un vestibule (par exemple un sas à double entrée ou le laboratoire de base – sécurité biologique niveau 2) délimitant une zone spécialement conçue pour maintenir une différence de pression entre le laboratoire et les espaces contigus. Le vestibule doit être aménagé pour la séparation des vêtements protecteurs sales et propres et disposer d'une douche si nécessaire.
2. Les portes du vestibule doivent être à fermeture automatique et à verrouillage asservi de sorte qu'une seule porte puisse être ouverte à la fois. Un panneau à briser en cas d'urgence peut être prévu.
3. La surface des murs, des sols et des plafonds doit résister à l'eau et être facile à nettoyer. Les orifices ménagés dans ces surfaces (pour la tuyauterie par exemple) doivent être scellés pour faciliter la décontamination des salles.
4. Le laboratoire doit pouvoir être fermé hermétiquement pour être décontaminé. Des gaines seront installées pour permettre une désinfection gazeuse.
5. Les fenêtres doivent être fermées hermétiquement et résister aux chocs.
6. Un lavabo pouvant être commandé sans l'aide des mains sera placé près de chaque porte de sortie.
7. Le système de ventilation doit créer un courant d'air dirigé de la zone d'accès vers l'intérieur de la salle. Un dispositif de contrôle visuel, muni ou non d'une alarme, doit être installé, de manière que le personnel puisse s'assurer que le flux d'air est toujours correctement dirigé.
8. Le système de ventilation doit être construit de manière à ce que l'air qui sort du laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 3, ne soit pas recyclé dans d'autres zones du bâtiment. L'air peut être filtré au moyen d'un filtre à particules de haute efficacité (HEPA), reconditionné et recyclé à l'intérieur de ce laboratoire.

L'air évacué du laboratoire (autre que celui qui sort des enceintes de sécurité biologique) sera rejeté directement à l'extérieur du bâtiment, de façon à être dispersé loin des bâtiments occupés et des prises d'air. Selon les agents utilisés, on pourra évacuer cet air en le faisant passer au préalable à travers des filtres HEPA. On pourra installer un système de régulation du chauffage, de la ventilation et de la climatisation de qui évite toute surpression permanente dans le laboratoire. On peut envisager l'installation d'un dispositif d'alarme acoustique ou visuelle parfaitement distinct pour prévenir le personnel en cas de panne du système de régulation.

9. Les filtres HEPA doivent tous être installés de manière à permettre la décontamination gazeuse ou les essais de fonctionnement.
10. Les enceintes de sécurité biologique doivent être situées hors des zones de passage et des courants d'air entre les portes et les systèmes de ventilation.
11. L'air qui sort des enceintes de sécurité de classe I et II (voir chapitre 10), après passage au travers des filtres HEPA, doit être évacué sans perturber le flux d'air, ni dans l'enceinte, ni dans le système d'aération du bâtiment.
12. Il faut disposer, dans la salle même du laboratoire, d'un autoclave pour la décontamination des déchets. Si des déchets infectieux doivent être transportés à l'extérieur du laboratoire de confinement pour décontamination et élimination, le transport doit s'effectuer dans des conteneurs incassables, hermétiquement fermés et étanches, conformément à la réglementation nationale ou internationale, selon le cas.
13. L'alimentation en eau sera munie de dispositifs anti-retour. Les conduites d'aspiration (circuit de vide) devront être protégées par des pièges à liquide désinfectant, des filtres HEPA ou des dispositifs équivalents. Les pompes à vide devront également être protégées par des pièges et des filtres.
14. La conception d'un laboratoire de confinement et les techniques mises en œuvre dans ce type de laboratoire doivent s'appuyer sur une documentation appropriée.

La figure 4 donne un exemple d'aménagement d'un laboratoire au niveau 3 de sécurité biologique.

Appareils et équipements de laboratoire

Le choix de l'appareillage, y compris des enceintes de sécurité biologique (voir chapitre 10), repose sur les mêmes principes que pour les laboratoires de base – sécurité biologique niveau 2. Toutefois, dans un laboratoire de sécurité biologique niveau 3, la manipulation de tous les matériels potentiellement infectieux doit s'effectuer dans une enceinte de sécurité biologique ou avec tout autre dispositif de confinement primaire. Il faut se souvenir que certains appareils tels que les centrifugeuses, par exemple, nécessitent des dispositifs de confinement supplémentaires, par exemple utilisation de godets, nacelles, etc. de sécurité ou confinement du rotor. Certaines centrifugeuses ou d'autres appareils comme les trieurs de cellules qui sont prévus pour travailler sur des

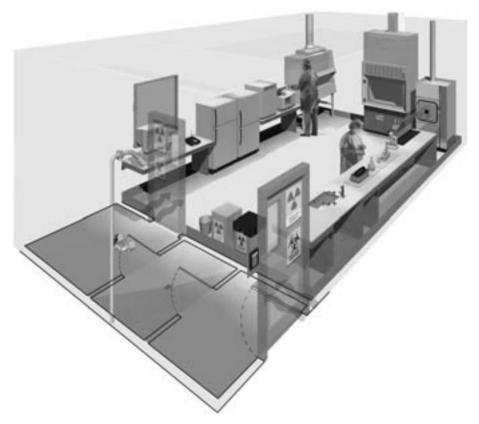



Figure 4. ***Laboratoire classique au niveau 3 de sécurité biologique.***
(figure aimablement communiquée par CUH2A, Princeton, NJ, Etats-Unis d'Amérique). Le laboratoire est séparé du lieu de passage général et accessible par un vestibule (qui peut être soit une entrée à double porte, soit le laboratoire de base – niveau de sécurité 2) ou par un sas à air. Le laboratoire est équipé d'un autoclave pour la décontamination des déchets avant leur élimination ainsi que d'un évier à commande « mains libres ». L'air circule de l'extérieur vers l'intérieur et toutes les manipulations sur du matériel biologique infectieux sont effectuées dans une enceinte de sécurité biologique.

cellules infectées, peuvent nécessiter l'installation d'une ventilation supplémentaire avec filtres HEPA pour un confinement efficace.

Surveillance médico-sanitaire

Les objectifs des programmes de surveillance médico-sanitaire des laboratoires de base sécurité biologique niveaux 1 et 2, s'appliquent également aux laboratoires de confinement – sécurité biologique niveau 3, moyennant les modifications suivantes :

1. La visite médicale est obligatoire pour tout le personnel de laboratoire qui travaille dans le laboratoire de confinement. Elle devra comporter une anamnèse

à la recherche des antécédents médicaux et un examen physique destiné à vérifier si la personne est médicalement apte à exercer ce type d'activité professionnelle.

2. Si le bilan médical est satisfaisant, l'intéressé recevra une carte médicale du genre de celle qui est reproduite à la figure 5 attestant qu'il est employé dans un établissement où se trouve un laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 3. Cette carte, que le titulaire devra toujours porter sur lui, comportera la photographie du titulaire et devra pouvoir être rangée dans un portefeuille ou un porte-cartes. Elle devra également indiquer le nom de la ou des personnes à contacter en cas de problème, lesquelles seront désignées localement, mais qui pourraient être par exemple, le directeur du laboratoire, le conseiller médical ou le délégué à la sécurité biologique.

A. Recto

SURVEILLANCE MÉDICALE

Nom ______________________

____

photographie du titulaire

À L'INTENTION DE L'EMPLOYÉ
Conserver cette carte sur vous. En cas d'accès fébrile inexpliqué, présenter cette carte à votre médecin et indiquer les personnes à joindre dans l'ordre de la liste.

Dr ______________ Tél. professionnel: ______________

______________ Tél. personnel: ______________

Dr ______________ Tél. professionnel: ______________

______________ Tél. personnel: ______________

B. Verso

À L'INTENTION DU MÉDECIN
Le titulaire de cette carte est employé à/au ______________________
Dans une zone où sont présents des virus, des rickettsies , des bactéries, des protozoaires ou des helminthes pathogènes. En cas d'accès fébrile inexpliqué, prière de prendre contact avec l'employeur pour obtenir des informations sur les agents auxquels l'employé a pu être exposé.

Nom du laboratoire ______________________

Adresse ______________________

____

____

____

Tél. ______________________

Figure 5. ***Modèle proposé de carte médicale.***

5. Le laboratoire de confinement à haute sécurité – Sécurité biologique niveau 4

Le laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4, est conçu pour les travaux sur des micro-organismes du groupe de risque 4. Avant de construire et de mettre en service un tel laboratoire, il convient d'ouvrir des consultations approfondies avec des institutions ayant l'expérience du fonctionnement de ce genre d'installation. Les laboratoires de confinement à haute sécurité opérationnels – sécurité biologique niveau 4 doivent être placés sous le contrôle des autorités sanitaires compétentes, nationales ou autres. Les informations qui suivent sont une simple introduction. Toute personne ou institution qui souhaiterait mettre en place un laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4 est invitée à prendre contact avec le Programme sur la sécurité biologique de l'OMS pour plus de renseignements.[1]

Code de bonnes pratiques

Les dispositions du code de bonnes pratiques relatives au niveau 3 de sécurité biologique restent valables, moyennant les modifications suivantes :

1. La règle du travail en binôme doit être appliquée; autrement dit, personne ne doit jamais travailler seul dans le laboratoire. Cette règle prend toute son importance dans un laboratoire – sécurité biologique niveau 4, où le port de combinaisons pressurisées est obligatoire.
2. Le personnel doit doit changer complètement de vêtements et de chaussures avant de pénétrer dans le laboratoire et avant de sortir.
3. Le personnel doit s'entraîner à la conduite à tenir pour l'évacuation d'urgence de personnes blessées ou prises de malaise.
4. Il faut mettre au point un système de communication entre les membres du personnel qui travaillent dans un laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4 et le personnel extérieur, que ce soit pour les contacts habituels ou en situation d'urgence.

---

[1] Programme de sécurité biologique, Département maladies transmissibles : surveillance et action, Organisation mondiale de la Santé, 20 Avenue Appia, 1211 Genève 27, Suisse (http ://www.who.int/csr/).

Conception et aménagement du laboratoire

Les caractéristiques du laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 3, s'appliquent au laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4, moyennant les additifs suivants :

1. ***Confinement primaire.*** Le laboratoire doit être doté d'un système efficace de confinement primaire respectant une ou plusieurs des conditions suivantes.
   — *Laboratoire avec enceintes de sécurité biologique de classe III.* Le passage par deux portes au minimum est nécessaire avant de pénétrer dans les salles où se trouvent l'enceinte ou les enceintes de sécurité biologique de classe III (salle des enceintes de sécurité). Dans ce type d'aménagement, c'est l'enceinte de sécurité biologique de classe III qui assure le confinement primaire. Le personnel doit disposer d'une douche avec un vestiaire intérieur et extérieur. Les fournitures et le matériel qui ne sont pas apportés dans la salle des enceintes de sécurité biologique en passant par le vestiaire, ne doivent être introduits qu'après passage dans un autoclave à double porte ou une chambre de fumigation. Une fois la porte extérieure bien fermée, le personnel qui se trouve dans le laboratoire peut ouvrir la porte intérieure pour récupérer fournitures et matériel. Un système de verrouillage asservi doit être mis en place au niveau des portes de l'autoclave ou de la chambre de fumigation pour éviter que la porte extérieure ne puisse être ouverte tant que l'autoclave n'a pas effectué son cycle de stérilisation ou que la chambre de fumigation n'a pas été décontaminée (voir chapitre 10).
   — *Laboratoire pour travaux en combinaison pressurisée.* Sur le plan de la conception et de l'aménagement, un laboratoire pour travaux en combinaison pressurisée diffère sensiblement d'un laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 4 doté d'enceintes de sécurité biologique de classe III. Dans ce type de laboratoire, les salles sont disposées de manière que le personnel passe par le vestiaire et la salle de décontamination avant d'entrer dans le secteur où du matériel biologique infectieux est manipulé. Une douche pour la décontamination des combinaisons doit être installée et le personnel doit l'utiliser avant de quitter les locaux du laboratoire de confinement. Le personnel doit également disposer d'une douche avec un vestiaire intérieur et extérieur. Le personnel qui pénètre dans la zone où l'on travaille en combinaison pressurisée est tenu de revêtir une combinaison d'une seule pièce, en surpression, avec filtre HEPA et alimentation en air. L'alimentation en air de la combinaison doit être assurée par un système à 100 % de redondance, avec une alimentation en air indépendante utilisable en cas d'urgence. On entre dans le laboratoire à travers un sas à air doté de portes étanches à l'air. Le personnel qui travaille dans ce type de laboratoire doit disposer d'un système d'alarme qu'il pourra utiliser dans l'éventualité d'une panne mécanique ou d'une défaillance de l'alimentation en air (voir chapitre 10).

2. ***Réglementation de l'accès***. Le laboratoire de confinement de haute sécurité – sécurité biologique niveau 4 doit être situé dans un bâtiment séparé ou tout au moins dans une zone clairement délimitée d'un bâtiment sécurisé. L'entrée et la sortie du personnel doit se faire à travers un sas ou autre dispositif de ce genre. A l'entrée, le personnel doit se changer complètement; avant de sortir, il doit prendre une douche avant de remettre ses vêtement de ville.
3. ***Régulation de la ventilation***. Les locaux doivent être maintenus en dépression. L'air doit être filtré au moyen de filtres HEPA tant à l'admission qu'à l'évacuation. Un laboratoire avec enceintes biologiques de sécurité classe III et un laboratoire pour travaux en combinaison pressurisée sont dotés de systèmes de ventilation sensiblement différents :
   - *Laboratoire avec enceintes de classe III*. L'air destiné aux enceintes de sécurité biologique classe III peut être prélevé dans la salle à travers un filtre HEPA monté sur l'enceinte ou bien amené directement par le système de ventilation. Avant d'être évacué à l'extérieur, l'air des enceintes de sécurité biologique classe III doit passer à travers deux filtres HEPA. L'enceinte doit toujours être en dépression par rapport à la salle. Il est nécessaire que ce laboratoire dispose d'un système spécial de ventilation sans recyclage.
   - *Laboratoire pour travaux en combinaison pressurisée*. Ce laboratoire doit posséder un système spécial de ventilation et d'évacuation de l'air vicié. L'alimentation et l'évacuation sont réglées de manière que le flux d'air qui circule dans la zone où sont portées les combinaisons de protection soit dirigé de la zone de moindre danger vers la ou les zones de risque maximal. Il faut que les ventilateurs d'extraction soient en surnombre de façon que l'installation reste constamment en dépression. Les différences de pression dans le laboratoire lui-même et entre le laboratoire et les locaux contigus, doivent être surveillées en permanence. Ce doit également être le cas de l'air qui circule dans les circuits d'alimentation et d'évacuation du système de ventilation et un dispositif de régulation approprié doit être installé pour éviter toute surpression à l'intérieur du laboratoire. L'air distribué dans la zone où sont portées les combinaisons de protection, la douche de décontamination et les sas ou chambres de décontamination doit passer à travers un filtre HEPA. L'air qui est évacué du laboratoire doit passer à travers deux filtres HEPA successifs avant d'être rejeté à l'extérieur. Une autre possibilité consiste, après cette double filtration, à recycler l'air évacué, mais uniquement à l'intérieur du laboratoire. L'air évacué d'un laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 4, ne doit en aucun cas être recyclé vers d'autres locaux. La plus grande prudence est de rigueur si l'on a opté pour un recyclage de l'air dans un laboratoire où le port de combinaisons pressurisées est imposé. Il convient de prendre en considération la nature des recherches effectuées, l'appareillage, les équipements, les produits chimiques et autres substances ainsi que les espèces animales utilisés pour ces recherches.

Tous les filtres HEPA doivent être contrôlés et certifiés une fois par an. Leurs gaines sont conçues pour permettre de décontaminer le filtre *in situ* avant de l'enlever. On peut aussi enlever le filtre en le plaçant dans un conteneur scellé étanche aux gaz en vue de sa décontamination ultérieure ou de sa destruction par incinération.

4. ***Décontamination des effluents***. Tous les effluents qui sortent du laboratoire où sont portées des combinaisons pressurisées, de la chambre de décontamination, de la douche de décontamination ou d'une enceinte de sécurité biologique classe III doivent être décontaminés avant d'être définitivement éliminés. La contamination par la chaleur est le procédé optimal. Il peut être nécessaire de les amener à pH neutre avant de les éliminer. L'eau provenant de la douche du personnel et des toilettes peut être évacuée directement dans l'égout séparatif sans traitement.
5. ***Stérilisation des déchets et des matériels***. Il est indispensable de disposer d'un autoclave à deux portes, formant sas. Toutefois, d'autres méthodes de décontamination doivent être utilisées pour traiter les équipements, appareils, instruments ou objets divers qui ne resisteraient pas à une stérilisation à la vapeur.
6. ***Sas d'entrée à air pour les échantillons, les matériels et les animaux***. Ils sont nécessaires pour ce type d'installation.
7. ***Un groupe électrogène de secours*** et une alimentation spéciale en air sont nécessaires.
8. ***Le confinement des écoulements*** doit être assuré.

Le calcul, la conception et la construction des installations de confinement à haute sécurité biologique niveau 4, qu'elles soient dotées d'enceintes de sécurité biologique ou de zones avec port obligatoire de combinaisons pressurisées, sont tellement complexes que les auteurs ont renoncé à faire figurer dans le présent manuel des représentations schématiques de ces installations.

En raison de la grande complexité du travail dans ce genre de laboratoire, un manuel détaillé sera préparé et testé à l'occasion d'exercices de formation. Un plan d'urgence sera également élaboré (voir chapitre 13), en collaboration active avec les autorités sanitaires nationales et locales. Il est également souhaitable que d'autres services de secours tels que les pompiers, la police et les services d'urgence des hôpitaux y participent.

6. Animaleries

Lorsque des animaux sont utilisés à des fins expérimentales ou de diagnostic, l'utilisateur a l'obligation morale de prendre toutes les mesures nécessaires pour éviter des souffrances inutiles. Les animaux doivent être installés de manière confortable et hygiénique et recevoir de l'eau et des aliments de bonne qualité, en quantité suffisante. A la fin de l'expérience, ils devront être traités avec humanité.

Pour des raisons de sûreté, l'animalerie doit être indépendante, séparée du laboratoire. Si elle est accolée à un laboratoire, elle sera conçue de manière à pouvoir être isolée des zones publiques du laboratoire, et à pouvoir être décontaminée et déparasitée.

Tableau 4. ***Niveaux de confinement des animaleries : pratiques et équipements de sécurité***

GROUPE DE RISQUE	NIVEAU DE CONFINEMENT	PRATIQUES DE LABORATOIRE ET ÉQUIPEMENTS DE SÉCURITÉ
1	NSBA-1	Accès limité, vêtements protecteurs et gants.
2	NSBA-2	Pratiques comme pour NSBA-1, en plus : panneaux de danger biologique : ESB de classe I ou II pour les activités génératrices d'aérosols. Décontamination des déchets et des cages avant le lavage.
3	NSBA-3	Pratiques comme pour NSBA-2, en plus : accès réglementé. ESB et vêtements protecteurs spéciaux pour toutes les activités.
4	NSBA-4	NSBA-3 avec, en plus : accès strictement limité. Changement de vêtements avant d'entrer. ESB de classe III ou combinaisons pressurisées. Douche avant de sortir. Décontamination de tous les déchets avant sortie de l'installation.

NSBA, niveau de sécurité biologique de l'animalerie; ESB, enceinte de sécurité biologique

Comme les laboratoires, les animaleries peuvent être conçues en fonction du groupe de risque auquel les micro-organismes étudiés appartiennent ou de l'évaluation du risque qu'ils représentent et correspondre aux niveaux de sécurité biologique 1, 2, 3 ou 4.

Eu égard aux agents utilisés dans un laboratoire d'expérimentation animale, les facteurs suivants sont à prendre en considération :

1. La voie normale de transmission
2. Les volumes et concentrations qui seront utilisés
3. La voie d'inoculation
4. La voie possible d'excrétion.

Eu égard aux animaux d'expérience utilisés au laboratoire, les facteurs suivants sont à prendre en considération :

1. La nature des animaux, à savoir leur agressivité et leur tendance à mordre ou à griffer
2. La nature de leurs ecto- ou endoparasites
3. Les zoonoses auxquelles ils sont sensibles
4. La propagation possible d'allergènes.

Comme dans le cas des laboratoires, les exigences relatives à la conception, à l'équipement et aux précautions à observer sont d'autant plus rigoureuses que le niveau de sécurité biologique est plus élevé. Elles sont exposées ci-dessous et résumées dans le tableau 4. Ces directives sont cumulatives, c'est-à-dire qu'à chaque niveau de sécurité s'appliquent toutes celles qui valent pour les niveaux inférieurs.

Animalerie – Sécurité biologique niveau 1

C'est le niveau qui convient pour conserver la plupart des animaux d'élevage après la quarantaine (à l'exception des primates, à propos desquels il convient de consulter les autorités nationales) et les animaux inoculés volontairement avec des agents du groupe de risque 1. Une bonne technique microbiologique est indispensable. Le responsable de l'animalerie doit déterminer la ligne de conduite générale, les procédures et les protocoles applicables à l'ensemble des opérations et en ce qui concerne l'accès au vivarium. Une surveillance médicale appropriée du personnel doit être instituée. Un guide d'hygiène et sécurité ou un manuel pratique doivent être rédigés et le personnel doit s'y conformer.

Animalerie – Sécurité biologique niveau 2

C'est le niveau qui convient pour le travail sur les animaux inoculés volontairement avec des agents appartenant au groupe de risque 2. Les mesures de sécurité suivantes sont applicables :

1. Toutes les exigences relatives aux animaleries – sécurité biologique niveau 1, doivent être respectées.
2. Des panneaux de danger biologique (voir figure 1) seront apposés sur les portes et autres endroits appropriés.
3. L'animalerie doit être conçue de manière à pouvoir être nettoyée et entretenue facilement.

4. Les portes doivent s'ouvrir vers l'intérieur et se fermer automatiquement.
5. Les locaux doivent être convenablement chauffés, ventilés et éclairés.
6. Si la ventilation est mécanique, le flux d'air doit être dirigé vers l'intérieur. L'air vicié est évacué à l'extérieur et ne doit en aucun cas être recyclé, où que ce soit dans le bâtiment.
7. L'accès doit être limité aux personnes autorisées.
8. A part les animaux destinés à l'expérimentation, aucun autre animal ne doit être introduit dans les locaux.
9. Un programme de lutte contre les arthropodes et les rongeurs doit être mis en place.
10. S'il y a des fenêtres, elles doivent être sécurisées, résister aux chocs et si elles sont susceptibles d'être ouvertes, comporter des grillages pour empêcher le passage des arthropodes.
11. Les plans de travail seront décontaminés avec des désinfectants efficaces après utilisation (voir chapitre 14).
12. Des enceintes de sécurité biologique (classe I ou II) ou des isolateurs disposant d'une alimentation spéciale en air et d'une évacuation de l'air vicié après filtration sur filtre HEPA doivent pouvoir être utilisés pour les activités susceptibles d'entraîner la formation d'aérosols.
13. Un autoclave doit être installé, soit sur place, soit à proximité.
14. Lorsqu'on retire la litière des animaux, il faut éviter au maximum la formation d'aérosols et de poussières.
15. Tous les déchets et les litières doivent être décontaminés avant élimination.
16. Autant que possible, on limitera l'utilisation d'instruments pointus ou tranchants. Ces instruments doivent toujours être ramassés dans des conteneurs résistants munis d'un couvercle (boîtes anti-piques) et traités comme du matériel infectieux.
17. Le matériel destiné à l'autoclavage ou à l'incinération doit être transporté en toute sécurité dans des conteneurs fermés.
18. Les cages des animaux doivent être décontaminées après utilisation.
19. Les cadavres des animaux seront incinérés.
20. Le port de vêtements et d'équipements de protection est obligatoire dans l'animalerie. Il devront être retirés au moment du départ.
21. Un lavabo doit être installé. Le personnel doit se laver les mains avant de quitter l'aimalerie.
22. Toute blessure, même mineure, doit être traitée de manière appropriée. Elle doit être signalée et enregistrée.
23. Il est interdit de manger, de boire, de fumer et de se maquiller dans l'animalerie.
24. Tous les membres du personnel doivent recevoir une formation appropriée.

Animalerie – Sécurité biologique niveau 3

C'est le niveau qui convient pour le travail avec des animaux inoculés volontairement avec des micro-organismes appartenant au groupe de risque 3, ou si une évaluation

du risque l'indique pour une autre raison. Chaque année, tous les systèmes, pratiques et modes opératoires doivent être réexaminés et faire l'objet d'un contrôle de conformité. Les règles de sécurité suivantes sont applicables :

1. Toutes les exigences relatives aux animaleries – niveaux de sécurité 1 et 2 doivent être respectées.
2. L'accès sera strictement réglementé.
3. L'installation doit être séparée des autres laboratoires et animaleries par une pièce formant vestibule, dotée d'une entrée à double porte.
4. Un lavabo doit être installé dans ce vestibule.
5. Le vestibule doit également comporter une douche.
6. Les locaux doivent être dotés d'une ventilation mécanique assurant une circulation continue de l'air dans toutes les salles. L'air vicié doit être évacué à travers des filtres HEPA avant d'être rejeté sans recyclage dans l'atmosphère extérieure. Le système doit être conçu de manière à empêcher une inversion du sens de circulation de l'air et toute surpression dans les locaux de l'animalerie.
7. Un autoclave doit être installé en un endroit commode de l'animalerie où se trouvent les équipements de confinement. Les déchets infectieux doivent être passés à l'autoclave avant d'être transportés dans d'autres locaux de l'installation.
8. Il faut disposer d'un incinérateur sur place ou prendre d'autres dispositions en consultation avec les autorités concernées.
9. Les cages des animaux porteurs de micro-organismes appartenant au groupe de risque 3 doivent être placées dans des isolateurs ou être disposées devant des ventilateurs d'extraction.
10. Il faut veiller à un dépoussiérage maximum des litières.
11. Tous les vêtements de protection devront être décontaminés avant de passer au blanchissage.
12. Les fenêtres doivent être hermétiquement fermées et résister aux chocs.
13. Le cas échéant, une vaccination sera proposée au personnel.

Animalerie – Sécurité biologique niveau 4

Le travail dans cette animalerie sera normalement associé aux manipulations du laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4, et les dispositions réglementaires nationales et locales devront être harmonisées pour pouvoir s'appliquer aux deux. Si des travaux doivent être effectués dans un laboratoire où le port de combinaisons pressurisées est obligatoire, un certain nombre d'autres pratiques et procédures sont à respecter en sus de celles qui sont décrites ici (voir chapitre 5).

1. Toutes les exigences relatives aux animaleries niveaux de sécurité 1, 2 et 3 doivent être respectées.
2. L'accès sera strictement réglementé; seul le personnel désigné par le directeur de l'établissement doit être autorisé à entrer.

3. Personne ne doit travailler seul : la règle du travail en binôme doit être appliquée.
4. Le personnel devra avoir reçu la formation de microbiologiste la plus poussée possible et bien connaître les risques liés à son travail et les précautions à observer.
5. Les secteurs où sont hébergés des animaux porteurs d'agents pathogènes du groupe de risque 4 doivent répondre en tout temps aux critères de confinement qui s'appliquent aux laboratoires de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4.
6. L'entrée dans l'animalerie doit se faire par un vestibule formant sas à air, dont le côté propre doit être séparé du côté à accès réglementé par un vestiaire et des douches.
7. Le personnel doit retirer ses vêtements de ville en entrant et mettre des vêtements protecteurs spéciaux. Après le travail, il doit enlever les vêtements protecteurs pour que ceux-ci soient passés à l'autoclave, puis se doucher avant de partir.
8. L'animalerie doit être ventilée au moyen d'un système d'évacuation d'air muni de filtres HEPA qui soit conçu pour créer une dépression (circulation de l'air vers l'intérieur).
9. Le système de ventilation doit être conçu pour empêcher une inversion du sens de circulation de l'air et toute surpression dans les locaux de l'animalerie.
10. Il faut disposer d'un autoclave à deux portes pour l'échange de matériel, le côté propre s'ouvrant dans une pièce extérieure aux salles de confinement.
11. L'échange de matériel non autoclavable doit se faire à travers un sas à air, dont le côté propre doit s'ouvrir dans une pièce située en dehors des salles de confinement.
12. Toutes les manipulations sur des animaux porteurs d'agents pathogènes appartenant au groupe de risque 4 doivent s'effectuer dans des conditions de sécurité correspondant à celles d'un laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4.
13. Tous les animaux doivent être hébergés dans des isolateurs.
14. La totalité des litières et des déchets doit être passée à l'autoclave avant de sortir de l'animalerie.
15. Le personnel doit être placé sous surveillance médicale.

Invertébrés

Comme pour les vertébrés, le niveau de sécurité de l'animalerie est déterminé par le groupe de risque auquel appartiennent les agents pathogènes étudiés, toutefois une évaluation du risque peut conduire en à décider autrement. Des précautions complémentaires sont nécessaires avec certains arthropodes, notamment les insectes volants :

1. Les invertébrés infectés et ceux qui ne le sont pas doivent être logés dans des pièces distinctes.
2. Les pièces doivent pouvoir être fermées hermétiquement pour fumigation.
3. Des pulvérisateurs d'insecticides doivent être mis à disposition.

4. Des systèmes de refroidissement doivent être prévus pour réduire, si nécessaire, l'activité des invertébrés.
5. L'accès se fera par un vestibule comportant des pièges à insectes et dont les portes seront munies de grillages pour empêcher le passage des arthropodes.
6. Tous les conduits de sortie de ventilation et les fenêtres susceptibles d'être ouvertes seront obturés par un grillage empêchant le passage des arthropodes.
7. Le siphon des éviers et des égouts ne doit jamais s'assécher.
8. Tous les déchets seront décontaminés par passage à l'autoclave, car certains invertébrés résistent à tous les désinfectants.
9. On contrôlera le nombre de formes larvaires et adultes des arthropodes volants, rampants et sauteurs.
10. Les cages des tiques et des acariens seront placées sur des plateaux contenant du pétrole.
11. Les insectes volants infectés ou qui pourraient l'être doivent être confinés dans des cages à double grillage.
12. Les arthropodes infectés ou qui pourraient l'être doivent être manipulés dans des enceintes biologiques de sécurité ou des isolateurs.
13. On peut également manipuler les insectes infectés ou qui pourraient l'être sur des plateaux refroidis.

Pour plus ample information se reporter aux références *3* à *6* de la bibliographie.

7. Principes directeurs pour la mise en service des laboratoires ou installations

On peut définir la mise en service d'un laboratoire ou d'une installation comme un processus consistant à procéder à un ensemble de contrôles et à établir des dossiers en vue d'attester que les éléments de la structure des locaux ainsi que tout ou partie des systèmes dont est équipé le laboratoire ont été installés, inspectés, soumis à des essais de fonctionnement et constatés conformes aux normes nationales ou internationales, selon le cas. Ces prescriptions se fondent sur les critères de conception et sur les fonctions respectives des divers systèmes dont sera équipé le laboratoire. En d'autres termes, la mise en service d'un laboratoire ne comportera pas les mêmes exigences pour tous les niveaux de sécurité biologique (1 à 4) et elle sera d'autant plus complexe que le niveau de sécurité sera plus élevé. Des conditions climatiques comme des températures très élevées ou très basses ou encore des valeurs extrêmes de l'hygrométrie, de même que des particularités géomorphologiques comme la présence de lignes de faille peuvent également influer sur la conception du laboratoire et par conséquent sur les exigences de mise en service. Une fois la mise en service achevée, les éléments structuraux importants du laboratoire et les divers équipements annexes auront été contrôlés dans diverses conditions d'exploitation et de défaut de fonctionnement raisonnablement prévisibles et déclarés conformes.

Le processus de mise en service et les contrôles de conformité doivent être organisés de bonne heure, de préférence lorsqu'on programme la construction ou la rénovation d'un laboratoire. En prenant acte de la mise en place du processus de mise en service dès les premiers stades du projet, les architectes, les ingénieurs, les responsables sécurité, le personnel sanitaire et au final, le personnel du laboratoire lui-même, vont réaliser ce que l'on attend du laboratoire en question sur le plan de l'efficacité et exprimer de manière cohérente leurs attentes à cet égard. Le processus de mise en service constitue, pour l'institution et la collectivité locale, une meilleure garantie de voir les éléments structuraux, l'installation électrique, les dispositifs mécaniques, la plomberie, les systèmes de confinement et de décontamination ainsi que les dispositifs d'alarme et de sécurité fonctionner comme prévu et empêcher la propagation de tout micro-organisme potentiellement dangereux sur lesquels on travaille dans le laboratoire ou l'animalerie.

Le processus de mise en service commence en général lors de la phase de préparation du projet et se poursuit pendant la construction et durant la période de garantie ultérieure. La période de garantie doit en général se prolonger un an après la récep-

tion de l'installation. Il est souhaitable, pour la mise en service, de ne retenir que des organismes ou entreprises n'ayant aucun lien avec les bureaux d'architectes et d'ingénieurs ou l'entreprise de génie civil qui ont conçu et construit le laboratoire. Cet organisme ou son représentant devra agir en tant que porte-parole de l'institution ou de l'établissement qui construit ou rénove le laboratoire et être considéré comme un membre de l'équipe chargée de la conception des installations; il est capital qu'il soit présent dès les premiers stades de la préparation du projet. Parfois, c'est l'institution qui assume elle-même ce rôle. Dans le cas de projets de laboratoires plus complexes (niveaux de sécurité biologique 3 ou 4), elle pourra s'assurer les services d'un organisme ou d'une entreprise extérieurs qui ont fait la preuve de leur expérience et de leur compétence dans la mise en service de laboratoires ou d'animaleries posant des problèmes complexes sur le plan de la sécurité biologique. Même si l'institution choisit un agent extérieur pour assurer la mise en service, elle doit malgré tout rester membre de l'équipe qui assume cette charge. Il est recommandé en outre que le délégué à la sécurité de l'institution, le responsable du projet, le directeur du programme ainsi qu'un représentant de la direction et de l'équipe de maintenance, en fasse également partie, aux côtés de l'agent chargé de la mise en service.

On trouvera ci-dessous la liste des systèmes et appareillages qui pourraient faire l'objet de contrôles de fonctionnement au titre de la mise en service du laboratoire, en fonction du niveau de confinement de l'installation en construction ou rénovation. Cette liste n'est pas exhaustive. Le plan de mise en service dépendra à l'évidence de la complexité du laboratoire envisagé.

1. Systèmes automatiques du bâtiment, et notamment les connexions avec les centres de surveillance et de commande à distance.
2. Systèmes de surveillance et de détection électronique.
3. Verrouillage électronique de sécurité et lecteurs de proximité.
4. Chauffage, ventilation (alimentation et évacuation) et climatisation.
5. Filtres à particules de haute efficacité (HEPA).
6. Systèmes de décontamination par filtration HEPA.
7. Commandes et asservissements des commandes de chauffage, ventilation, climatisation et évacuation de l'air vicié.
8. Volets d'isolement étanches.
9. Systèmes de réfrigération.
10. Chaudières et production de vapeur.
11. Systèmes de détection et d'extinction des incendies.
12. Dispositif anti-reflux pour les eaux usées.
13. Systèmes de traitement de l'eau (par ex. osmose inverse, distillation, etc.).
14. Systèmes de traitement et de neutralisation des effluents liquides.
15. Dispositif d'amorçage de vidange des eaux usées.
16. Systèmes de décontamination chimique.
17. Systèmes d'approvisionnement en gaz médicaux de laboratoire.

18. Systèmes d'alimentation en air pour combinaisons pressurisées.
19. Systèmes d'alimentation en air pour le service et l'appareillage.
20. Contrôle de la régulation cascade des différences de pression dans les laboratoires et locaux de service.
21. Réseau informatique local (LAN) et systèmes informatiques d'enregistrement et de traitement des données.
22. Alimentation électrique par le réseau.
23. Groupes électrogènes de secours.
24. Alimentation électrique sans coupure.
25. Eclairage de secours.
26. Joints d'étanchéité des traversées pour l'installation électrique.
27. Joints d'étanchéité des traversées électriques et mécaniques.
28. Installation téléphonique.
29. Asservissement du verrouillage de la commande des portes des sas à air.
30. Joints d'étanchéité des portes.
31. Joints d'étanchéité des fenêtres et panneaux d'observation.
32. Etanchéité des traversées des revêtements d'isolement.
33. Contrôle de l'absence de défauts dans les éléments structuraux de l'installation : dalles, murs et plafonds en béton.
34. Contrôle du revêtement d'isolement des sols, murs et plafonds.
35. Contrôle du dispositif de mise en pression et d'isolement des enceintes de confinement pour le niveau de sécurité 4.
36. Enceintes de sécurité biologique.
37. Autoclaves.
38. Installation pour l'azote liquide avec son dispositif d'alarme.
39. Système de détection des fuites d'eau (par ex. en cas d'inondation dans la zone de confinement).
40. Douche de décontamination et système de distribution d'additifs chimiques.
41. Installation de lavage des cages et de neutralisation des eaux de lavage.
42. Gestion des déchets.

8. Principes directeurs pour l'agrément des laboratoires/installations

Un laboratoire est un environnement complexe et dynamique. Aujourd'hui, les laboratoires de recherche biomédicale et de biologie médicale doivent être capables de s'adapter rapidement aux exigences et aux contraintes sans cesse croissantes de la santé publique. C'est ainsi, par exemple, que les laboratoires doivent repenser leurs priorités pour faire face à la menace que représentent la réapparition de certaines maladies infectieuses ou l'émergence de pathologies nouvelles. C'est pour faire en sorte que cette adaptation et les mesures de maintenance correspondantes s'effectuent avec la promptitude voulue que tous les laboratoires de recherche biologique et de biologie médicale sont soumis à un agrément périodique. Cette procédure contribue à garantir que :

1. Le laboratoire est doté de systèmes de contrôle technique appropriés et que ceux-ci fonctionnent conformément aux prévisions.
2. Des moyens de contrôle spécifiques du site et des protocoles utilisés ont été mis en place.
3. Les équipements de protection individuelle sont adaptés aux manipulations effectuées.
4. Le problème de la décontamination des déchets a été convenablement étudié et que la marche à suivre appropriée pour la gestion de ces déchets a été établie.
5. Des règles de sécurité générale, concernant notamment les risques physiques, électriques et chimiques, ont été établies.

La procédure d'agrément d'un laboratoire diffère du processus de mise en service (chapitre 7) sur un certain nombre de points importants. Elle consiste en effet à examiner systématiquement tous les équipements et mesures de sécurité qui existent dans le laboratoire (systèmes de contrôle technique, équipements de protection individuelle, gestion administrative). Les pratiques et procédures relevant de la sécurité biologique sont également examinées. L'agrément d'un laboratoire est un processus continu d'assurance de la qualité et de la sécurité qui doit être repris périodiquement.

L'agrément d'un laboratoire peut être confié à des professionnels de la santé et de la sécurité au travail ou de la sécurité biologique convenablement formés. Les institutions peuvent disposer, parmi leur personnel, de cadres possédant l'ensemble de compétences nécessaires pour effectuer des audits, des enquêtes ou des inspections

(ces termes sont considérés comme interchangeables) dans le cadre de la procédure d'agrément. Toujours est-il que ces institutions peuvent également envisager d'engager ou être tenues d'engager des tiers pour effectuer ce service.

Les centres de recherche biomédicale ou de biologie médicale peuvent élaborer des outils destinés à ces audits, enquêtes ou inspections afin d'assurer la cohérence du processus d'agrément de leurs divers laboratoires. Ces outils doivent présenter une adaptabilité suffisante pour tenir compte des différences matérielles ou opérationnelles entre laboratoires qu'implique la nature des travaux effectués, tout en assurant une approche uniforme à l'intérieur de chaque institution. Il faut veiller à ce que ces outils ne soient utilisés que par un personnel convenablement formé et qu'ils ne se substituent pas à une bonne évaluation biosécuritaire conduite par des professionnels. Les tableaux 5 à 7 en donnent quelques exemples.

Les résultats des audits, enquêtes ou inspections doivent être discutés avec le personnel et la direction du laboratoire. Dans chaque laboratoire, il faut désigner une personne qui sera chargée de veiller à ce que des mesures soient prises pour remédier à toutes les défectuosités relevées au cours de ces contrôles. Le processus d'agrément n'est pas achevé et le laboratoire ne peut être considéré comme opérationnel tant que ces défectuosités n'ont pas été corrigées.

En raison de leur caractère complexe, les activités des laboratoires – sécurité biologique niveau 4 ne peuvent être envisagées dans cet ouvrage. Pour plus de détails et des informations plus complètes, le lecteur est invité à s'adresser au Programme de sécurité biologique de l'OMS[1] (voir également l'annexe 3).

[1] Programme de sécurité biologique, Département maladies transmissibles: surveillance et action, Organisation mondiale de la Santé, 20 Avenue Appia, 1211 Genève, Suisse (http://www.who.int/csr/).

Tableau 5. ***Laboratoire de base – sécurité biologique niveau 1 : contrôle de sécurité***

Lieu : . . . . Date : . . . .
Responsable du laboratoire :. . . . .

POINTS CONTRÔLÉS (NOTER LA DATE)	OUI	NON	SANS OBJET	OBSERVATIONS
Laboratoire				
Signalisation appropriée : UV, laser, substances radioactives, etc.	☐	☐	☐	Niveau de sécurité biologique: *Joindre le formulaire de contrôle biosécuritaire correspondant*
Directives biosécuritaires existantes et suivies	☐	☐	☐	
Appareils de laboratoire correctement marqués (danger biologique, radioactivité, toxicité, etc.	☐	☐	☐	
Conception du laboratoire				
Facile à nettoyer	☐	☐	☐	
Lampes UV dotées d'un interrupteur d'interdiction	☐	☐	☐	
Etagères solidement assujetties	☐	☐	☐	
Revêtement des paillasses étanche et résistant aux acides, aux bases, aux solvants organiques et à la chaleur	☐	☐	☐	
Eclairage suffisant	☐	☐	☐	
Espace de rangement suffisant et correctement utilisé	☐	☐	☐	
Bouteilles de gaz				
Toutes les bouteilles arrimées	☐	☐	☐	
Bouteilles de réserve munies de bouchons	☐	☐	☐	
Gaz asphyxiants ou toxiques présents uniquement dans les salles ventilées	☐	☐	☐	
Présence de bouteilles vides ou en excès	☐	☐	☐	
Produits chimiques				
Produits inflammables rangés dans l'armoire appropriée	☐	☐	☐	
Double datage des produits générateurs de peroxydes (réception et ouverture)	☐	☐	☐	
Bonne séparation des produits	☐	☐	☐	
Produits dangereux rangés au-dessus du niveau des yeux	☐	☐	☐	
Produits rangés au sol	☐	☐	☐	
Récipients de produits chimiques restés ouverts	☐	☐	☐	
Bon étiquetage de toutes les solutions	☐	☐	☐	
Utilisation de thermomètres à mercure	☐	☐	☐	
Réfrigérateurs, congélateurs, chambres froides				
Présence d'aliments pour la consommation humaine	☐	☐	☐	
Produits inflammables dans des unités à l'épreuve des explosions ou sécurisées	☐	☐	☐	
Présence de substances cancérogènes, radioactives ou d'un risque biologique indiquée par une marque extérieure	☐	☐	☐	
Système d'ouverture d'urgence des chambres froides	☐	☐	☐	

POINTS CONTRÔLÉS (NOTER LA DATE)	OUI	NON	SANS OBJET	OBSERVATIONS
Equipement électrique				
Présence de rallonges	☐	☐	☐	
Prises femelles à la terre et avec la polarité appropriée	☐	☐	☐	
Branchements à proximité des éviers sous les douches, etc.	☐	☐	☐	
Appareils avec fils effilochés ou endommagés	☐	☐	☐	
Prises surchargées ou plaquettes à connexions	☐	☐	☐	
Plaquettes à connexions non posées sur le sol	☐	☐	☐	
Fusibles appropriés dans les gaines	☐	☐	☐	
Les prises proches de l'alimentation en eau sont conformes à la réglementation locale	☐	☐	☐	
Câbles électriques à la terre	☐	☐	☐	
Radiateurs portables	☐	☐	☐	
Equipement de protection individuelle				
Rince-yeux dans le laboratoire	☐	☐	☐	
Douche de sécurité	☐	☐	☐	
Equipement de protection individuelle (gants, blouses, lunettes de sécurité, lunettes à coques etc.)	☐	☐	☐	
Personnel portant des vêtements appropriés	☐	☐	☐	
Blouses, combinaisons, sarraus, gants et autres vêtements ou accessoires de protection non portés hors du laboratoire	☐	☐	☐	
Tenues de protection individuelle pour le stockage cryogénique	☐	☐	☐	
Gestion des déchets				
Signes d'une évacuation défectueuse des déchets	☐	☐	☐	
Déchets triés et rassemblés dans les récipients appropriés	☐	☐	☐	
Récipients pour déchets chimiques marqués, étiquetés, datés et fermés	☐	☐	☐	
Récipients pour déchets chimiques correctement manipulés et rangés	☐	☐	☐	
Récipients pour objets pointus ou tranchants correctement utilisés et éliminés	☐	☐	☐	
Pas de détritus sur le sol	☐	☐	☐	
Affichage de la marche à suivre pour l'élimination des déchets	☐	☐	☐	
Existence de programmes de santé et sécurité au travail				
Communication du risque	☐	☐	☐	
Protection respiratoire	☐	☐	☐	
Protection auditive	☐	☐	☐	
Surveillance du formaldéhyde	☐	☐	☐	
Surveillance de l'oxyde d'éthylène	☐	☐	☐	
Surveillance des gaz anesthésiants	☐	☐	☐	

POINTS CONTRÔLÉS (NOTER LA DATE)	OUI	NON	SANS OBJET	OBSERVATIONS
Systèmes de contrôle technique				
Locaux du laboratoire en dépression par rapport aux autres locaux occupés, les couloirs et les bureaux ...	☐	☐	☐	
Eviers ou conduites d'évacuation jouant le rôle d'évents	☐	☐	☐	
Lavabo	☐	☐	☐	
Eléments mécaniques exposés (poulies, engrenages) ...	☐	☐	☐	
Conduite d'aspiration (circuit de vide) avec filtres et pièges au niveau des paillasses	☐	☐	☐	
Risque de reflux dans le réseau d'alimentation en eau	☐	☐	☐	
Appareil à distiller l'eau en bon état	☐	☐	☐	
Programme actif et efficace de lutte contre les arthropodes et les rongeurs	☐	☐	☐	
Pratiques et règles générales				
Aliments destinés à la consommation humaine conservés en dehors du laboratoire	☐	☐	☐	
Avertissement du genre « Défense d'introduire des aliments – réservé au travail de laboratoire » clairement marqué sur les fours à micro-ondes	☐	☐	☐	
On mange, boit, fume ou se maquille dans le laboratoire ..	☐	☐	☐	
Récipients en verre sous pression scotchés ou protégés (par ex. pièges à vide)	☐	☐	☐	
Pipettage à la bouche interdit	☐	☐	☐	
Dispositifs de pipettage mécaniques, propipettes, etc. fournis et utilisés	☐	☐	☐	
Rangement distinct pour les tenues de laboratoire et les vêtements de ville	☐	☐	☐	
Tenue générale du laboratoire				
Récipients en verre rangés sur le sol	☐	☐	☐	
Risques de trébuchement manifestes	☐	☐	☐	
Lingettes absorbantes propres sur les plans de travail ...	☐	☐	☐	
Manipulation mécanique des débris de verre (pelle et brosse, pinces, etc.)	☐	☐	☐	
Sécurité incendie				
Pommes des asperseurs dégagées et non obstruées ...	☐	☐	☐	
Pas de joints d'étanchéité au niveau des traversées des murs, plafonds , planchers, etc.	☐	☐	☐	
Passage de fils et de tuyaux dans l'ouverture des portes ..	☐	☐	☐	
Allées de circulation de 1m de largeur au minimum	☐	☐	☐	
Objets rangés sur des conduites ou sur des appareils électriques	☐	☐	☐	
Combustibles excédentaires stockés dans le laboratoire	☐	☐	☐	
Bains chauffants à température constante				
Avec faible niveau d'eau et interrupteur de surchauffe ...	☐	☐	☐	
Construits en matériau non combustible	☐	☐	☐	

Signature du contrôleur :. . . . . Date d'achèvement du contrôle : . . . .

Tableau 6. ***Laboratoire de base – Sécurité biologique niveau 2 : contrôle de sécurité.***
Ce formulaire est à utiliser avec le formulaire de contrôle biosécuritaire pour le laboratoire de base – sécurité biologique niveau 1

Lieu : . . . . Date : . . . .
Responsable du laboratoire :. . . . .

POINTS CONTRÔLÉS (NOTER LA DATE)	OUI	NON	SANS OBJET	OBSERVATIONS
Enceinte de sécurité biologique (ESB)				
Agrément au cours de l'année précédente	☐	☐	☐	Date :
Nettoyage de la surface de l'ESB avec un désinfectant	☐	☐	☐	
approprié au début et à la fin de chaque manipulation	☐	☐	☐	Emplacement :
Grille frontale et filtre d'évacuation non obstrués	☐	☐	☐	Marque :
Présence de flammes nues dans l'enceinte	☐	☐	☐	
Conduites d'aspiration (circuit de vide) munies de filtres et de pièges à désinfectants en état de fonctionner	☐	☐	☐	Type : Nº de série :
Efficacité de l'ESB compromise par l'air ambiant ou l'emplacement	☐	☐	☐	
Utilisation de l'ESB en présence d'un risque de formation d'aérosols	☐	☐	☐	
Laboratoire				
Accès limité au personnel autorisé	☐	☐	☐	
Entrée limitée au personnel connaissant la totalité des risques	☐	☐	☐	
Panneau de danger biologique apposé si nécessaire sur la porte du laboratoire	☐	☐	☐	
• Informations du panneau exactes et à jour	☐	☐	☐	
• Panneau lisible et en bon état	☐	☐	☐	
Toutes les portes fermées	☐	☐	☐	
Décontamination				
Décontaminant spécifique du ou des micro-organismes en cause	☐	☐	☐	
Le chef de laboratoire est prévenu si du matériel infectieux est répandu ou impliqué dans un accident	☐	☐	☐	
Un décontaminant approprié est utilisé pour nettoyer un produit répandu	☐	☐	☐	
Les plans de travail sont nettoyés avant et après chaque manipulation, quotidiennement ou si un produit a été répandu	☐	☐	☐	
Manipulation des déchets contaminés				
Bon usage des conteneurs de déchets contaminés	☐	☐	☐	
Pas de conteneurs remplis à ras bords	☐	☐	☐	
Conteneurs correctement étiquetés et fermés	☐	☐	☐	
Cultures et autres déchets soumis à réglementation dûment décontaminés avant élimination	☐	☐	☐	
Transport dans des conteneurs fermés, solides et étanches du matériel décontaminé hors du laboratoire, conformément à la réglementation locale	☐	☐	☐	

POINTS CONTRÔLÉS (NOTER LA DATE)	OUI	NON	SANS OBJET	OBSERVATIONS
Décontamination biologique des déchets mixtes avant élimination sous la forme de déchets chimiques ou radiologiques	☐	☐	☐	
Protection individuelle				
Vaccinations ou examens nécessaires rappelés au personnel selon les agents infectieux manipulés	☐	☐	☐	
Services médicaux compétents contactés pour les bilans de santé, la surveillance médicale et le traitement en cas d'exposition professionnelle	☐	☐	☐	
Port de gants pour la manipulation de matériel biologique infectieux ou d'équipements contaminés	☐	☐	☐	
Protection faciale lors de travaux sur du matériel infectieux en dehors d'une ESB	☐	☐	☐	
Lavage des mains une fois les gants enlevés et avant de sortir du laboratoire en cas de travaux sur des agents infectieux	☐	☐	☐	
Possibilité d'administrer un anti-infectieux à titre de premier secours	☐	☐	☐	
Pratiques				
Utilisation d'une ESB s'il y a possibilité de projections ou de formation d'aérosols de matériel infectieux	☐	☐	☐	
Un manuel de sécurité biologique a été préparé et adopté	☐	☐	☐	
Le personnel lit, étudie et suit les instructions relatives aux pratiques et techniques et en particulier celles qui figurent dans le manuel de sécurité ou le manuel de laboratoire (obligatoire une fois par an pour tout le personnel)	☐	☐	☐	
Les manipulations sont effectuées de manière à produire le moins possible d'aérosols ou d'éclaboussures	☐	☐	☐	
Des seringues autobloquantes ou jetables sont utilisées pour les travaux sur agents infectieux	☐	☐	☐	
Les godets et les rotors des centrifugeuses ne sont ouverts qu'à l'intérieur d'une ESB	☐	☐	☐	
Les échantillons infectieux sont transportés hors d'une ESB dans des conteneurs approuvés conformément à la réglementation relative au transport de ce type de produit	☐	☐	☐	
Commodités				
Lavabo installé près de la sortie du laboratoire	☐	☐	☐	

Signature du contrôleur :. . . . . Date d'achèvement du contrôle : . . . .

Tableau 7. ***Laboratoire de confinement – Sécurité biologique niveau 3 : contrôle de sécurité.*** *Ce formulaire est à utiliser avec les formulaires de contrôle biosécuritaire pour les laboratoires – sécurité biologique niveau 1 et sécurité biologique niveau 2.*

Lieu : . . . . Date : . . . .
Responsable du laboratoire :. . . . .

POINTS CONTRÔLÉS (NOTER LA DATE)	OUI	NON	SANS OBJET	OBSERVATIONS
Etablissement				
Laboratoire séparé des points de passage normaux du bâtiment	☐	☐	☐	
Accès au laboratoire par un vestibule doté de portes à fermeture automatique	☐	☐	☐	
Des joints d'étanchéité sont posés ou peuvent l'être au niveau de toutes les traversées en vue de la décontamination du laboratoire	☐	☐	☐	
Air du local non recyclé et évacué hors des secteurs occupés	☐	☐	☐	
Système de ventilation régulé permettant le contrôle du sens de circulation de l'air	☐	☐	☐	
Protection individuelle				
Port de blouses fermées sur le devant dans le laboratoire	☐	☐	☐	
Port des vêtements de protection limité aux locaux du laboratoire	☐	☐	☐	
Lavabo actionné par le pied, le coude ou à déclenchement automatique	☐	☐	☐	
Protection des mains				
Port de gants doubles pour le travail avec du matériel infectieux et des d'équipements ou des plans de travail pouvant être contaminés	☐	☐	☐	
Protection respiratoire				
Port d'une protection respiratoire par l'ensemble du personnel du laboratoire lorsque des aérosols ne sont pas confinés de façon sûre dans une ESB	☐	☐	☐	
Pratiques				
Dispositif de protection des muqueuses à disposition pour la manipulation de matériel infectieux hors d'une ESB	☐	☐	☐	
Personnel averti des risques particuliers liés à l'agent ou aux agents infectieux	☐	☐	☐	
Personnel tenu de lire et d'observer toutes les instructions relatives aux pratiques et techniques, y compris celles du manuel de sécurité biologique ou du manuel de laboratoire	☐	☐	☐	
Mises à jour annuelles adressées au personnel ou formation complémentaire si des changements sont apportés à certaines techniques	☐	☐	☐	
Autoclavage de tous les déchets avant élimination	☐	☐	☐	

Signature du contrôleur :. . . . . Date d'achèvement du contrôle : . . . .

PARTIE II

Sûreté biologique en laboratoire

9. Principes de la sûreté biologique en laboratoire

Jusqu'ici, le contenu du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* a surtout consisté dans un exposé des principes classiques de la sécurité biologique en laboratoire. Les précédentes éditions montrent combien il est important que les laboratoires aient recours à de bonnes techniques microbiologiques, disposent de systèmes de confinement appropriés et d'installations bien conçues et agencées, avec des équipements correctement utilisés et entretenus, et qu'en outre les services administratifs veillent à réduire au minimum les risques de lésions ou de maladie chez le personnel. Si les laboratoires suivent ces recommandations, ils seront également à même de réduire au minimum les risques pour l'environnement et la collectivité dans son ensemble. Divers événements survenus ces dernières années dans le monde mettent en lumière la nécessité de protéger les laboratoires et les matières qu'ils détiennent contre un certain nombre de périls susceptibles d'entraîner des dommages pour la population, le bétail, l'agriculture ou l'environnement. Avant de voir quels peuvent être les besoins des laboratoires en matière de sûreté biologique, il convient de définir clairement ce que l'on entend par *sécurité et sûreté biologique* et en quoi ces deux notions se distinguent.

La *sécurité biologique* consiste dans la mise en œuvre d'un certain nombre de principes, de techniques et de pratiques de confinement visant à prévenir le risque accidentel d'exposition du personnel à des agents pathogènes ou à des toxines, ou encore de libération de telles substances. La *sûreté biologique*, elle, consiste dans la mise en place d'un certain nombre de mesures d'ordre administratif et de gestion du personnel, en vue de réduire le risque de perte, de vol, d'utilisation à mauvais escient, de détournement ou de libération délibérée d'agents ou de toxines.

Le véritable fondement de la sûreté biologique réside dans l'application en laboratoire des pratiques de sécurité biologique. En effet, grâce aux évaluations du risque pratiquées dans le cadre du programme biosécuritaire de l'établissement, on peut recueillir des informations sur la nature des micro-organismes détenus, sur l'emplacement de ces micro-organismes, sur le personnel qui demande à pouvoir en disposer et sur l'identité de la personne responsable de ces germes. On peut alors exploiter ces informations pour déterminer si un établissement détient des matières biologiques susceptibles d'attirer des personnes envisageant d'en faire un usage criminel. Il convient d'élaborer des normes nationales identifiant et examinant les respon-

sabilités actuelles des pays et des établissements dans la protection des échantillons, des agents pathogènes et des toxines détenus contre toute utilisation abusive.

Il incombe à chaque laboratoire, en fonction de ses besoins, de la nature de ses activités et des conditions locales, d'élaborer et de mettre en œuvre un programme de sûreté biologique spécifique. Par conséquent, les activités de sûreté biologique pratiquées dans un laboratoire doivent être représentatives des divers besoins de cet établissement et bénéficier de la contribution ou de l'avis des directeurs scientifiques, des principaux chercheurs, des responsable de la sûreté biologique, du personnel scientifique du laboratoire, du personnel d'entretien, des responsables administratifs, du personnel spécialisé dans les technologies de l'information et, si nécessaire, des services de répression des fraudes et du personnel de sécurité.

Les mesures de sûreté biologique en laboratoire doivent s'appuyer sur un programme complet de responsabilisation à l'égard des agents pathogènes et des toxines, qui comprend un inventaire actualisé identifiant l'emplacement de ces matières et du personnel y ayant accès et indiquant leur utilisation, leurs transferts internes à l'établissement ou entre établissements, ainsi que toute inactivation et/ou élimination éventuelles des matières. De même, il convient d'établir un protocole de sûreté biologique pour le laboratoire, destiné à guider l'identification, le signalement, l'étude et l'élimination des failles dans la sûreté biologique de cet établissement, y compris les incohérences dans les résultats d'inventaire. La participation, les rôles et les responsabilités des autorités de santé et de sécurité publiques en cas d'entorse à la sûreté doivent être clairement définis.

Une formation à la sûreté biologique en laboratoire, distincte de la formation à la sécurité biologique en laboratoire, doit être dispensée à tout le personnel. Une telle formation devrait aider les membres du personnel à comprendre les besoins en matière de protection de ces matières et les raisons des différentes mesures de sécurité biologique. Elle devrait aussi inclure un examen des normes nationales pertinentes et des procédures propres à l'établissement. Au cours de cette formation, il convient de présenter également les procédures précisant les rôles et les responsabilités du personnel en matière de sûreté en cas d'infraction dans ce domaine.

L'aptitude professionnelle et morale à travailler avec des agents pathogènes dangereux de l'ensemble du personnel disposant d'un accès autorisé régulier aux matières sensibles joue également un rôle déterminant dans l'efficacité des activités concernant la sûreté en laboratoire.

En résumé, les précautions de sûreté doivent devenir des éléments de routine du travail de laboratoire, à l'égal des mesures d'asepsie ou de sécurité microbiologique. Les mesures de sûreté biologique en laboratoire ne doivent pas faire obstacle à un partage efficace des matières de référence, des échantillons cliniques et épidémiologiques et des informations qui s'y rapportent, nécessaires aux enquêtes cliniques ou de santé publique. Un programme de sûreté bien géré ne devrait pas entraver outre mesure les activités quotidiennes du personnel scientifique, ni faire obstacle à la réalisation des recherches. Un accès légitime aux recherches et aux matières cliniques

importantes doit être préservé. L'évaluation de l'aptitude des membres du personnel, l'apport à ces membres d'une formation spécifique à la sûreté et un respect rigoureux des procédures de protection des agents pathogènes constituent des moyens raisonnables pour améliorer la sûreté biologique en laboratoire. La mise en place et le maintien de tous ces efforts passe par la réalisation d'évaluations des risques et des menaces et par la révision et la mise à jour des procédures sur une base régulière. Des contrôles du respect de ces procédures, s'appuyant sur des instructions claires quant aux rôles, aux responsabilités et aux mesures correctives, doivent être prévus par les programmes de sûreté biologique en laboratoire et par les normes nationales dans ce domaine.

PARTIE III

Equipements de laboratoire

10. Enceintes de sécurité biologique

Les enceintes de sécurité biologique (ESB) – appelées aussi postes de sécurité microbiologique (PSM) – sont conçues pour éviter que l'opérateur, le local du laboratoire et le matériel de travail ne soient exposés aux aérosols ou éclaboussures infectieux qui pourraient se produire lors de la manipulation de matériels biologiques contenant des agents pathogènes, comme les cultures primaires, les souches pour les cultures et les échantillons destinés au diagnostic. Des aérosols se produisent lors de toute manipulation qui communique de l'énergie à un produit liquide ou semi-liquide, par exemple lorsqu'on secoue, verse, agite, ou fait tomber un liquide goutte à goutte sur une surface ou dans un autre liquide. D'autres opérations, par exemple ensemencer en stries une plaque de gélose, inoculer des flacons pour culture cellulaire à l'aide d'une pipette, utiliser une pipette multivoies pour délivrer une suspension liquide d'agents infectieux sur une plaque de microculture, homogénéiser et mélanger du matériel biologique infectieux, centrifuger un liquide ou travailler sur un animal, peuvent provoquer la formation d'aérosols infectieux. Les particules d'aérosol de moins de 5 µm de diamètre ou les gouttelettes de diamètre compris entre 5 et 100 µm, ne sont pas visibles à l'œil nu. Lorsque des aérosols se forment, l'opérateur ne s'en rend généralement pas compte, et il n'a pas conscience non plus qu'ils peuvent être inhalés ou provoquer la contamination croisée des plans de travail. On a montré qu'une ESB convenablement utilisée est capable de réduire très efficacement le nombre d'infections contractées au laboratoire ou les contaminations croisées consécutives à une exposition à des aérosols infectieux. Les ESB contribuent également à la protection de l'environnement.

Au cours des années, la conception de base des ESB a subi un certain nombre de modifications. L'une des plus importantes a été le montage d'un filtre à particules de haute efficacité (filtre HEPA) sur le système d'évacuation. Ce filtre est capable d'arrêter 99,97 % des particules de 0,3 µm de diamètre et 99,99 % de celles dont le diamètre se situe de part et d'autre de cette valeur. Un filtre HEPA peut donc arrêter efficacement tous les agents infectieux connus et l'on peut donc être certain que l'air qui sort de l'enceinte est exempt de germes pathogènes. Une deuxième modification a consisté à diriger l'air filtré sur le plan de travail, ce qui permet d'éviter la contamination de ce plan et de ce qui s'y trouve. On parle souvent de « protection du produit » pour désigner cette caractéristique. Le tableau 8 indique le type de protection conféré dans chaque cas.

Remarque. Les hottes à flux laminaire horizontal ou vertical **ne sont pas** des enceintes de sécurité biologiques et ne doivent pas être utilisées comme telles.

Tableau 8. ***Choix d'une enceinte biologique de sécurité (ESB) en fonction du type de protection recherché***

TYPE DE PROTECTION	ESB À UTILISER
Protection du personnel, micro-organismes des groupes de risque 1 à 3	Classe I, Classe II, Classe III
Protection du personnel, micro-organismes du groupe de risque 4, laboratoire avec boîte à gants	Classe III
Protection du personnel, micro-organismes du groupe de risque 4, port obligatoire de combinaisons pressurisées	Classe I, Classe II
Protection du produit	Classe II, Classe III uniquement si flux laminaire
Protection contre les radionucléides volatils/ protection chimique, quantités minimes	Classe IIB1, Classe IIA2 à évacuation extérieure
Protection contre les radionucléides volatils/ protection chimique	Classe I, Classe IIB2, Classe III

Enceinte de sécurité biologique de classe I

Le schéma d'une enceinte de sécurité biologique de classe I est représenté sur la figure 6. L'air est aspiré par l'ouverture frontale à la vitesse minimale de 0,38 m/s et passe sur le plan de travail avant d'être évacué par une conduite munie d'un filtre. Le courant d'air entraîne hors de la zone de respiration de l'opérateur les particules d'aérosol qui pourraient se former au niveau du plan de travail et les dirige vers la conduite d'évacuation. L'opérateur peut passer les bras par l'ouverture frontale pour atteindre le plan de travail situé à l'intérieur de l'enceinte tout en observant ce plan à travers un panneau de verre. Ce panneau peut également être complètement levé, ce qui permet d'accéder plus facilement au plan de travail pour le nettoyer ou pour toute autre raison.

L'air de l'enceinte est évacué par une conduite munie d'un filtre HEPA : a) dans le laboratoire, puis à l'extérieur du bâtiment par le circuit d'évacuation de ce dernier; b) à l'extérieur par le circuit d'évacuation du bâtiment; c) directement à l'extérieur. Le filtre HEPA peut être monté sur la gaine d'évacuation de l'ESB ou sur le circuit d'évacuation du bâtiment. Certaines ESB de classe I sont équipées d'un filtre HEPA intégré, les autres utilisent le ventilateur d'extraction qui équipe le circuit d'évacuation du bâtiment.

L'ESB de classe I a été la première enceinte de ce type à être agréée et, du fait de la simplicité de sa conception, elle est encore très largement utilisée dans le monde. Elle présente l'avantage d'assurer la protection du personnel et de l'environnement et peut également être utilisée pour travailler sur des radionucléides ou des produits chimiques volatils et toxiques. Toutefois, comme l'air aspiré par l'ouverture frontale passe sur le plan de travail sans être stérilisé, ce dispositif ne protège pas à coup sûr le produit manipulé.

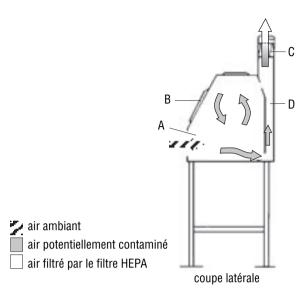



Figure 6. ***Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe I.*** *A, ouverture frontale; B, panneau d'observation à guillotine; C, filtre HEPA monté sur la conduite d'évacuation; D, gaine d'évacuation.*

Enceinte de sécurité biologique de classe II

Les cultures cellulaires et tissulaires étant de plus en plus utilisées pour la culture des virus, on a estimé qu'il n'était plus acceptable de faire passer de l'air non stérilisé provenant de la pièce sur le plan de travail. Les ESB de classe II ont été conçues non seulement pour assurer la protection du personnel, mais également pour éviter que le matériel biologique présent sur le plan de travail ne soit contaminé par l'air de la pièce. Les ESB de classe II, dont il existe quatre types (A1, A2, B1 et B2), se différencient des ESB de classe I par le fait qu'elles ne laissent passer sur le plan de travail que de l'air stérile c'est-à-dire ayant traversé un filtre HEPA. Les ESB de classe II peuvent être utilisées pour travailler sur des agents infectieux des groupes de risque 2 et 3. Elles peuvent également être utilisées pour travailler sur des agents infectieux du groupe de risque 4 si l'opérateur porte une combinaison de protection pressurisée.

Enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1

La figure 7 représente une enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1. Un ventilateur placé à l'intérieur de l'enceinte aspire l'air par l'ouverture frontale et le fait passer à travers la grille avant. Au niveau de l'ouverture frontale, l'air doit être aspiré à la vitesse minimum de 0,38 m/s. L'air traverse ensuite un filtre HEPA avant de se diriger vers le bas pour passer sur le plan de travail. Au cours de son mouvement descendant, le courant d'air se divise à une distance d'environ 6 à 18 cm du plan de travail pour former deux courants secondaires, l'un qui passe à travers la grille avant

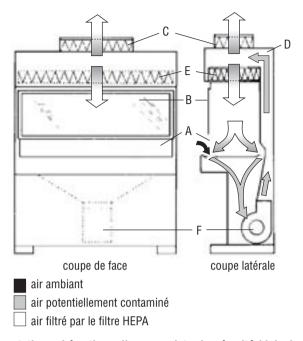



Figure 7. ***Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1.***
A, ouverture frontale; B, panneau d'observation à guillotine; C, filtre HEPA d'évacuation; D, chambre de distribution arrière; E, filtre HEPA d'admission; F, ventilateur.

et l'autre à travers la grille arrière. Toutes les particules d'aérosol qui se forment au niveau du plan de travail sont immédiatement piégées par ce courant descendant et entraînées à travers les grilles avant ou arrière, ce qui assure une protection maximale du produit manipulé. L'air s'échappe ensuite par la chambre de distribution située à l'arrière pour aboutir dans l'espace qui se trouve au sommet de l'enceinte, entre le filtre d'admission et le filtre d'évacuation. Compte tenu des dimensions relatives de ces deux filtres, environ 70 % de l'air est recyclé à travers le filtre d'admission pour revenir sur le plan de travail; les 30 % restants sont rejetés dans la pièce ou à l'extérieur après avoir traversé le filtre d'évacuation.

L'air rejeté par une enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1 peut être recyclé dans la pièce ou évacué à l'extérieur du bâtiment en raccordant l'enceinte à une conduite d'évacuation spéciale à l'aide d'un manchon ou en le faisant passer par le circuit d'évacuation général.

Le recyclage de l'air dans la pièce a l'avantage de réduire les dépenses en combustible de l'établissement car l'air chauffé ou refroidi ne s'échappe pas à l'extérieur. Le raccordement par une gaine étanche de l'enceinte au circuit d'évacuation permet également d'utiliser certaines ESB pour travailler sur des radionucléides et des produits chimiques toxiques volatils (tableau 8).

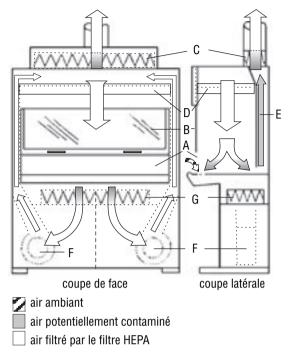



Figure 8. ***Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe II, type B1.***
A, ouverture frontale; B, panneau d'observation à guillotine; C, filtre HEPA d'évacuation; D, filtre HEPA d'admission; E, gaine d'évacuation en dépression; F, ventilateur; G, filtre HEPA d'admission d'air. Il est nécessaire de raccorder le circuit d'évacuation de l'enceinte au circuit général d'évacuation du bâtiment.

Enceintes de sécurité biologique de classe II, type A2 avec ventilation sur l'extérieur et de classe II, types B1 et B2

Les ESB de classe II, type A2 avec ventilation sur l'extérieur et les ESB de classe II types B1 (figure 8) et B2, sont des variantes de l'ESB II, type A1. Le tableau 9 en donne les caractéristiques, avec celles des ESB de classe I et de classe III. Chacune de ces variantes correspond à un usage particulier (voir tableau 8). Elles diffèrent les unes des autres à plusieurs égards : vitesse de l'air à travers l'ouverture frontale; quantité d'air recyclée sur le plan de travail et évacuée de l'enceinte; circuit d'évacuation, qui détermine si l'air issu de l'enceinte est rejeté dans la pièce ou à l'extérieur, par l'intermédiaire d'un circuit d'évacuation spécial ou par le circuit d'évacuation général; réglage de la pression (enceinte dont les gaines et la chambre de distribution biologiquement contaminées sont en dépression ou, à défaut, sont entourées de volumes en dépression).

Les références bibliographiques *7* et *8* ainsi que les brochures disponibles auprès des fabricants donnent une description complète des diverses ESB de classe IIA et IIB.

Tableau 9. ***Différences entre les enceintes de sécurité biologique (ESB) des classes I, II et III.***

ESB	VITESSE À L'ENTRÉE (m/s)	COURANT D'AIR (%)		CIRCUIT D'ÉVACUATION
		RECYCLÉ	ÉVACUÉ	
Classe I[a]	0,36	0	100	Jonction rigide étanche
Classe IIA1	0,38–0,51	70	30	Evacuation dans la pièce ou manchon de raccordement
Classe IIA2 avec ventilation sur l'extérieur[a]	0,51	70	30	Evacuation dans la pièce ou manchon de raccordement
Classe IIB1[a]	0,51	30	70	Jonction rigide étanche
Classe IIB2[a]	0,51	0	100	Jonction rigide étanche
Classe III[a]	Sans objet	0	100	Jonction rigide étanche

[a] Toutes les gaines et tous les conduits potentiellement contaminés sont en dépression ou sont entourés de gaines et de volumes en dépression.

Enceinte de sécurité biologique de classe III

Ce type d'enceinte (figure 9), qui assure au personnel la protection maximale, est utilisé pour travailler sur des agents infectieux du groupe de risque 4. Toutes les traversées sont dotées de joints étanches aux gaz. L'air admis dans l'enceinte passe à travers un filtre HEPA et l'air qui en sort à travers deux filtres HEPA. La circulation de l'air est assurée par un circuit d'évacuation spécial situé à l'extérieur de l'enceinte, qui en maintien l'intérieur en dépression (environ 124,5 Pa). Pour accéder au plan de travail, on utilise des gants en caoutchouc très résistant fixés à des orifices frontaux. Les ESB de classe III doivent être équipées d'un sas de passage susceptible d'être stérilisé et doté d'un système d'évacuation avec filtre HEPA. Les enceintes de classe III peuvent être raccordées à un autoclave à double porte pour la décontamination de tout ce qui entre ou sort de l'enceinte. Pour disposer d'un plan de travail plus vaste, on peut adjoindre plusieurs boîtes à gants. Les ESB de classe III conviennent pour les manipulations effectuées dans les laboratoires de sécurité biologique niveau 3 ou 4.

Raccordements pour l'évacuation de l'air des enceintes de sécurité biologique

Il existe des manchons de raccordement ou des hottes que l'on peut utiliser avec les ESB de classe IIA1 ou IIA2 avec ventilation extérieure. Le manchon de raccordement s'adapte sur le boîtier d'évacuation de l'enceinte et permet d'en aspirer l'air pour l'amener jusqu'aux gaines d'évacuation du bâtiment. Un petit espace, généralement de 2,5 cm de diamètre est ménagé entre le boîtier d'évacuation de l'enceinte et le raccord, ce qui permet d'aspirer l'air de la pièce pour l'amener également dans le circuit d'évacuation du bâtiment. Le manchon doit être amovible ou tout au moins

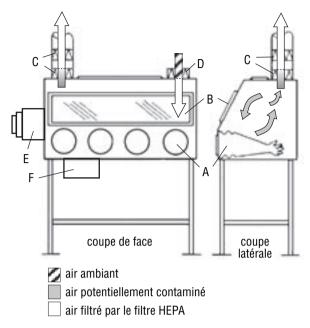



Figure 9. ***Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe III (boîte à gants).***
A, orifices de fixation des manchons à gants; B, panneau d'observation à guillotine; C, deux filtres HEPA d'évacuation montés en série; D, filtre HEPA d'admission; E, autoclave à deux portes ou sas de passage; F, cuve de désinfection chimique. Il est nécessaire de raccorder le circuit d'évacuation de l'enceinte à un circuit d'évacuation du bâtiment indépendant.

être conçu pour permettre de contrôler le fonctionnement de l'enceinte. En règle générale, les fluctuations du débit de l'air dans le circuit de ventilation du bâtiment n'ont guère d'influence sur le fonctionnement d'une ESB raccordée au circuit par un manchon de ce genre.

Les ESB de classe IIB1 ou IIB2 sont dotées de jonctions rigides étanches, c'est-à-dire qu'elles sont raccordées directement, sans laisser aucun espace, au circuit d'évacuation du bâtiment ou, de préférence, à un circuit d'évacuation spécial. Il faut que le circuit d'évacuation du bâtiment soit parfaitement adapté aux spécifications indiquées par le fabricant, tant en ce qui concerne le volume d'air que la pression statique. Le processus d'agrément des ESB à jonction rigide étanche est plus long que dans le cas des enceintes avec recyclage de l'air dans la pièce ou qui sont reliées au circuit d'évacuation au moyen d'un manchon ou d'une hotte.

Choix d'une enceinte de sécurité biologique

Le choix d'une ESB doit reposer avant tout sur le type de protection nécessaire : protection du produit manipulé, protection du personnel contre des micro-organismes des groupes de risque 1 à 4, protection du personnel contre des radionucléides ou des

produits chimiques toxiques et volatils, protection simultanée contre plusieurs de ces risques. Le tableau 8 indique quel modèle d'ESB utiliser pour chaque type de protection.

Il ne faut pas utiliser de produits chimiques toxiques ou volatils dans les enceintes avec recyclage de l'air dans la pièce, à savoir les enceintes de classe I qui ne sont pas raccordées au circuit d'évacuation du bâtiment ou les enceintes de classe IIA1 ou IIA2. Les enceintes de classe IIB1 peuvent convenir pour des manipulations sur de très petites quantités de produits chimiques ou de radionucléides volatils. Lorsque l'on travaille sur des quantités plus importantes de radionucléides ou de produits chimiques volatils, il faut utiliser une enceinte à évacuation totale, c'est-à-dire une ESB de classe IIB2.

Utilisation des enceintes de sécurité biologique au laboratoire

Emplacement

La vitesse de l'air qui traverse l'ouverture frontale d'une ESB est d'environ 0,45 m/s. A cette vitesse, le flux d'air entrant est facilement perturbé par les courants d'air produits par les personnes qui se déplacent à proximité de l'ESB, les fenêtres ouvertes, les registres d'admission de l'air ou encore l'ouverture ou la fermeture des portes. Il faut donc installer les ESB dans des emplacements qui soient éloignés des points de passage et des courants d'air qui pourraient perturber leur fonctionnement. Dans la mesure du possible, il faudrait prévoir un dégagement d'une trentaine de centimètres derrière l'enceinte et sur chacun de ses côtés pour faciliter l'accès en cas d'opérations de maintenance. Il peut également s'avérer nécessaire de prévoir un dégagement d'environ 30 à 35 cm au-dessus de l'enceinte afin que l'on puisse mesurer exactement la vitesse de l'air à travers le filtre d'évacuation et le cas échéant, changer le filtre.

Opérateurs

Si les enceintes de sécurité biologique ne sont pas utilisées correctement, la protection conférée risque d'être considérablement réduite. L'opérateur doit veiller à ne pas perturber le flux d'air entrant lorsqu'il passe les bras dans le volume de travail ou les en retire. Il faut déplacer les bras très lentement en avant ou en arrière, perpendiculairement à l'ouverture frontale. Avant de manipuler du matériel dans le volume de travail d'une ESB, il faut attendre environ 1 minute, une fois que l'on a passé les bras à l'intérieur, pour que l'enceinte s'adapte et que le courant d'air vienne balayer la surface des mains et des bras. Il faut également veiller à ne faire qu'un minimum de mouvements à travers l'ouverture frontale en plaçant tous les instruments et objets nécessaires sur le plan de travail avant de commencer la manipulation.

Disposition du matériel

La grille de reprise frontale des ESB de classe II ne doit pas être obstruée par du papier, des appareils ou d'autres objets. Il faut désinfecter la surface du matériel que l'on va disposer à l'intérieur de l'enceinte avec de l'alcool à 70 %. On peut travailler sur un linge absorbant imprégné de désinfectant pour retenir les projections et les éclaboussures. Tout le matériel doit être disposé aussi loin que possible dans le volume de

travail, en se rapprochant au maximum du bord distal du plan de travail, mais en évitant d'obstruer la grille arrière. Les appareils qui produisent des aérosols (par ex. mélangeurs, centrifugeuses, etc.) doivent être placés vers le fond de l'enceinte. Le matériel encombrant, comme les sacs de sécurité biologique, les plateaux pour pipettes utilisées et les fioles à vide doivent être placés sur un des côtés du volume de travail. Sur le plan de travail, il faut travailler en allant des zones propres vers les zones contaminées.

Le sac de sécurité autoclavable destiné à recueillir le matériel infectieux et les plateaux à pipettes ne doivent pas être placés hors de l'enceinte. Les fréquents mouvements de va-et-vient entre l'intérieur et l'extérieur de l'enceinte qui sont nécessaires pour utiliser ces récipients peuvent perturber la veine de garde et par voie de conséquence, nuire à la protection du personnel et du produit manipulé.

Utilisation et maintenance

La plupart des ESB sont conçues pour une utilisation 24 h sur 24 et les chercheurs estiment que cette utilisation ininterrompue facilite la réduction du taux de poussières et de matières particulaires présentes dans le laboratoire. Les enceintes de classe IIA1 et IIA2 dont l'air est évacué dans la pièce ou dans un circuit d'évacuation spécial au moyen d'un manchon de raccordement, peuvent être débranchées lorsqu'elles ne sont pas utilisées. Dans d'autres types d'enceinte, comme les ESB de classe IIB1 et IIB2 qui sont directement connectées aux gaines d'évacuation par un raccordement étanche, l'air doit circuler en permanence pour que l'air de la pièce reste en état d'équilibre. Il faut brancher les enceintes au moins 5 minutes avant de commencer à travailler et attendre également 5 minutes une fois la manipulation achevée, pour « purger » le volume de travail, c'est-à-dire pour que l'air contaminé ait le temps d'être évacué de l'enceinte.

Toute réparation effectuée sur une ESB doit être confiée à un technicien qualifié. Si un dysfonctionnement se produit pendant l'utilisation de l'enceinte, il faut le signaler et y remédier avant de réutiliser l'enceinte.

Lampes UV

Il n'est pas nécessaire d'équiper les ESB de lampes à ultraviolets. Si toutefois on utilise de telles lampes, il faut les nettoyer chaque semaine pour éliminer la poussière et les saletés qui pourraient réduire l'action germicide du rayonnement. L'intensité du rayonnement ultraviolet doit être mesurée lors de chaque nouvel agrément de l'enceinte afin de vérifier que l'émission de la lampe est satisfaisante. Les lampes UV doivent être éteintes quand des personnes sont présentes dans la pièce, afin de protéger leurs yeux et leur peau contre toute exposition accidentelle.

Flammes nues

Il faut éviter la présence de toute flamme nue dans l'environnement quasi stérile qui existe à l'intérieur de l'enceinte. En effet, les flammes perturbent la circulation de l'air et peuvent être dangereuses si l'on utilise également des substances volatiles

inflammables. Pour stériliser les anses bactériologiques, il existe des microbrûleurs et des « fours » électriques, qui sont préférables aux flammes nues.

Produits répandus accidentellement

Il faut afficher dans le laboratoire un exemplaire de la conduite à tenir si des produits sont répandus accidentellement et veiller à ce chacun lise et assimile ces instructions. Si un produit présentant un danger biologique est répandu accidentellement dans une ESB, il faut nettoyer immédiatement le volume de travail pendant que l'enceinte continue à fonctionner. On utilisera à cet effet un désinfectant efficace que l'on devra appliquer en s'efforçant de produire le moins d'aérosols possible. Tout ce qui entre en contact avec le produit répandu doit être désinfecté ou passé à l'autoclave.

Agrément

La procédure d'agrément stipule qu'un contrôle doit être effectué sur chaque ESB pour vérifier qu'elle fonctionne conformément aux spécifications nationales et internationales et ne présente pas de défaut. Ce contrôle doit être pratiqué lors de l'installation puis périodiquement par des techniciens qualifiés, conforméments aux instructions du fabricant. Pour évaluer l'efficacité du confinement assuré par une enceinte, il faut procéder aux contrôles suivants : intégrité de la structure, présence éventuelle de fuites au niveau des filtres HEPA, paramètres vélocimétriques du flux d'air descendant, vitesse frontale du courant d'air, contrôle manométrique de la dépression, débit des ventilateurs, essai au fumigène pour contrôler le flux d'air, alarmes et asservissement du verrouillage. On peut également effectuer d'autres contrôles (facultatifs) : défauts d'isolation électrique, intensité de l'éclairage, intensité du rayonnement UV, niveau de bruit et vibrations. Une formation, des compétences et des équipements spécialisés sont indispensables pour effectuer ces contrôles et il est vivement recommandé de les faire exécuter par un professionnel qualifié.

Nettoyage et désinfection

Tout ce qui se trouve à l'intérieur de l'enceinte, y compris l'appareillage, doit faire l'objet d'une décontamination en surface et être retiré du volume de travail une fois la manipulation achevée, car un reste de milieu de culture peut permettre la prolifération des micro-organismes.

Les surfaces intérieures de l'enceinte doivent être décontaminées avant et après chaque utilisation. Les plans de travail et les parois intérieures doivent être passés au désinfectant de manière à tuer tous les micro-organismes présents. A la fin de la journée de travail, on procédera à une décontamination finale consistant à passer au désinfectant le plan de travail, les parois latérales, le fond ainsi que la face arrière du panneau d'observation. A cet effet, on peut utiliser une solution d'hypochlorite ou de l'alcool à 70 %, si ces produits sont efficaces contre les germes que l'on cherche à éliminer. Si on utilise un désinfectant corrosif, comme l'hypochlorite par exemple, il faudra encore rincer les surfaces avec de l'eau stérile.

Il est recommandé de procéder à cette désinfection pendant que l'enceinte est en marche. Si elle a été arrêtée, on la remettra en marche pendant 5 minutes pour la purger de l'air qu'elle contient avant de la débrancher définitivement.

Décontamination

L'enceinte doit être décontaminée avant de changer les filtres ou avant de la déplacer. La méthode la plus courante consiste en une fumigation au formaldéhyde. La décontamination des enceintes doit être effectuée par un professionnel qualifié.

Equipements de protection individuelle

Des vêtements protecteurs doivent être portés chaque fois que l'on utilise une ESB. Les blouses de laboratoire sont acceptables pour le travail aux niveaux de sécurité biologique 1 ou 2. Aux niveaux 3 ou 4, il faut utiliser des blouses à boutonnage dans le dos, qui assurent une meilleure protection (sauf dans un laboratoire où le port d'une combinaison pressurisée est obligatoire). Les gants doivent être bien tirés de manière à passer par dessus les poignets et non pas en dessous. Pour se protéger les poignets, on peut ajouter des manches à élastique. Certaines manipulations nécessitent le port d'un masque ou de lunettes de protection.

Alarmes

Les ESB peuvent être équipées d'un ou deux types d'alarme. Certaines alarmes n'équipent que les enceintes dotées d'un panneau d'observation à guillotine. Ces alarmes se déclenchent si l'opérateur place le panneau dans une mauvaise position et ne s'arrêtent que lorsqu'il a remis le panneau correctement en place. Un autre type d'alarme est destiné à avertir d'une perturbation dans la circulation de l'air. Son déclenchement est un signal de danger immédiat pour l'opérateur ou pour le produit. Si cette alarme retentit, il faut interrompre immédiatement la manipulation et prévenir le chef de laboratoire. Le manuel d'utilisation fourni par le fabricant doit indiquer quelle est ensuite la marche à suivre. Ces questions doivent être abordées lors de la formation à l'utilisation des ESB.

Informations complémentaires

Le choix de l'ESB appropriée, son installation, son utilisation correcte et le contrôle annuel de son bon fonctionnement sont des opérations complexes. Il est vivement recommandé qu'elles soient supervisées par un professionnel de la sécurité biologique parfaitement formé et expérimenté. Ce spécialiste doit très bien connaître la littérature correspondante mentionnée dans la bibliographie du présent manuel et il doit avoir reçu une formation complète sur la question. Les opérateurs doivent également recevoir une formation en bonne et due forme portant sur le fonctionnement et l'utilisation des ESB.

Pour de plus amples informations, le lecteur est prié de se reporter aux références *5* et 7 à *16*, ainsi qu'au chapitre 11.

11. Equipements de sécurité

Comme les aérosols sont une source importante d'infection, il faut veiller à ce qu'il s'en forme le moins possible et éviter de les disperser. Des aérosols dangereux peuvent se former dans de nombreux laboratoires, par exemple lorsqu'on mélange, mixe, broie, secoue, agite, traite aux ultrasons ou centrifuge du matériel biologique infectieux. Même en utilisant un appareillage qui répond aux normes de sécurité, il est préférable d'effectuer autant que possible ces opérations dans une enceinte de sécurité biologique agréée. Les différents types d'enceintes de sécurité biologique, ainsi que leur utilisation et leur contrôle sont traités au chapitre 10. L'utilisation d'équipements de sécurité ne garantit pas la protection de l'opérateur si celui-ci n'est pas formé et n'utilise pas les techniques appropriées. Ces équipements doivent subir des contrôles périodiques afin de s'assurer qu'ils continuent à fonctionner en toute sécurité.

Le tableau 10 donne la liste des équipements et instruments de sécurité conçus pour éliminer ou réduire certains risques et indique brièvement les caractéristiques qui contribuent à leur sécurité d'utilisation. Des précisions sont données par la suite sur une bonne partie de cet appareillage. Des informations complémentaires sur la manière de bien les utiliser sont également données au chapitre 12.

L'annexe 4 donne un certain nombre de renseignements sur les équipements et les opérations ou manipulations qui comportent un danger.

Isolateurs à dépression en film ou feuille de plastique souple

L'isolateur à dépression en film souple est un dispositif de confinement primaire autonome qui assure une protection maximale contre le matériel biologique dangereux. Il peut être monté sur un support mobile. Le volume de travail est complètement fermé par une enveloppe transparente en chlorure de polyvinyle (PVC) suspendue à un cadre en acier. La pression à l'intérieur de l'isolateur est maintenue à une valeur inférieure à celle de la pression atmosphérique. L'admission de l'air se fait à travers un filtre HEPA et son extraction à travers deux filtres du même type placés en série, ce qui évite d'avoir à installer une gaine pour l'évacuer à l'extérieur du bâtiment. On peut équiper l'isolateur d'un incubateur, d'un microscope ou d'autres types d'objets ou d'instruments tels que centrifugeuses, cages pour animaux, enceintes chauffantes, etc. Tous ces objets ou ces matériels sont introduits ou retirés par des orifices destinés, l'un à l'instrumentation et l'autre aux échantillons, sans risque pour la sécurité microbiologique. Les manipulations se font à l'aide de manchons dont

Tableau 10. ***Equipements et instruments de sécurité biologique***

EQUIPEMENTS ET INSTRUMENTS	RISQUES	CARACTÉRISTIQUES DE SÉCURITÉ
Enceinte de sécurité biologique		
— Classe I	Aérosols et projections	• Flux entrant minimal (vitesse frontale) au niveau de l'ouverture frontale. Bonne filtration de l'air évacué • Pas de protection du produit
— Classe II	Aérosols et projections	• Flux entrant minimal (vitesse frontale). Bonne filtration de l'air évacué • Assure la protection du produit
— Classe III	Aérosols et projections	• Confinement à haute sécurité • Assure la protection du produit si flux laminaire
Isolateur à dépression en feuille de plastique souple	Aérosols et projections	• Confinement à haute sécurité
Ecran anti-projections	Projections de produits chimiques	• Constitue un écran entre l'opérateur et la manipulation
Pipetteurs	Risques dus au pipettage à la bouche : ingestion de germes pathogènes, inhalation des aérosols produits par la succion exercée sur la pipette, expulsion de liquide ou chute de gouttes, contamination de l'extrémité de la pipette servant à aspirer	• Facilité d'utilisation • Pas de contamination de l'extrémité pour l'aspiration, protection du pipetteur, de l'utilisateur et du circuit de vide (conduites d'aspiration) • Stérilisation possible • Pas de fuite par la pointe de la pipette
Anse micro-incinérateurs, Anses jetables	Projections provenant des anses de transfert	• Protection par un tube fermé à une extrémité en verre ou en céramique,chauffé au gaz ou à l'électricité • Jetables, chauffage inutile
Récipients étanches pour recueillir et transporter le matériel infectieux à stériliser dans une installation appropriée de l'établissement	Aérosols, produits répandus par suite de renversements ou de fuites	• Construction étanche, munie d'un couvercle • Résistance à l'usure • Autoclavables

EQUIPEMENTS ET INSTRUMENTS	RISQUES	CARACTÉRISTIQUES DE SÉCURITÉ
Conteneurs pour objets pointus ou tranchants	Piqûres et coupures	• Autoclavables • Anti-piques, robustes
Conteneurs de transport d'un laboratoire ou d'un établissement à l'autre	Libération de micro-organismes dans l'environnement	• Robustes • Conteneurs primaires et secondaires étanches à l'eau (antifuites) • Matériau absorbant retenant les liquides
Autoclaves, manuels ou automatiques	Objets et matériel contaminés (sécurisés en vue de leur élimination ou réutilisation)	• Modèles agréés • Efficacité de la stérilisation par la chaleur
Flacons à bouchon vissé	Aérosols et produits répandus	• Confinement efficace
Protection du circuit de vide ou conduites d'aspiration	Contamination du circuit de vide ou des conduites d'aspiration par des aérosols ou le débordement de liquides	• Un filtre à cartouche arrête les aérosols (diamètre des particules 0,45 µm) • La fiole à trop-plein contient un désinfectant approprié. On peut utiliser un flotteur en caoutchouc pour couper automatiquement la dépression quand la fiole est pleine • Le système peut être entièrement autoclavé

l'extrémité est munie de gants jetables. L'isolateur est équipé d'un manomètre pour la surveillance de la pression à l'intérieur de l'enveloppe plastique.

Les isolateurs en film souple sont utilisés pour manipuler les micro-organismes à haut risque (groupes de risque 3 ou 4) sur le terrain, dans des conditions où il serait impossible ou imprudent d'installer et d'utiliser des enceintes de sécurité biologique classiques.

Pipetteurs

Le pipettage doit toujours se faire au moyen de pipetteurs. Le pipettage à la bouche est absolument interdit.

On ne saurait trop insister sur l'importance des dispositifs de pipettage. Les accidents les plus courants liés au pipettage sont dus au pipettage à la bouche. L'aspiration par la bouche et l'ingestion de produits dangereux sont responsables d'un grand nombre d'infections et d'accidents de laboratoire.

Des germes pathogènes peuvent également être véhiculés jusqu'à la bouche si le doigt avec lequel on ferme la pipette a été contaminé. Le pipettage à la bouche présente un autre danger beaucoup moins connu, à savoir l'inhalation des aérosols qui se forment pendant l'aspiration. Le cotonnage des pipettes n'assure pas une filtration microbiologique satisfaisante, en pression positive ou négative, et des particules peuvent traverser le coton. Si celui-ci est très serré, on risque d'aspirer fortement, et en conséquence, d'aspirer le coton, l'aérosol et même le liquide. L'utilisation de pipetteurs permet donc d'éviter l'ingestion de germes pathogènes.

Des aérosols peuvent également se former lorsqu'une goutte de liquide tombe sur un plan de travail, lorsqu'on mélange une culture par aspirations et refoulements successifs, et lorsqu'on souffle pour évacuer la dernière goutte de la pipette. On peut éviter l'inhalation des aérosols qui se forment inévitablement au cours du pipettage en travaillant dans une enceinte de sécurité biologique.

Les pipetteurs seront choisis avec soin. Ils seront conçus et utilisés de manière à ne pas créer de risque supplémentaire d'infection et ils doivent pouvoir être nettoyés et stérilisés facilement. Des pipettes dont la pointe est munie d'un embout (anti-aérosols) doivent être utilisées pour la manipulation des micro-organismes et des cultures cellulaires.

Les pipettes dont l'extrémité d'aspiration est ébréchée ou fêlée ne seront pas utilisées car elles endommagent le joint étanche des dispositifs de pipettage et comportent donc un risque.

Homogénéiseurs, agitateurs secoueurs, mélangeurs et générateurs d'ultrasons

Les homogénéiseurs domestiques (utilisés à la cuisine) ne sont pas hermétiques et libèrent des aérosols. On utilisera exclusivement des homogénéiseurs conçus pour les laboratoires. Ils sont construits de manière à réduire ou empêcher la libération d'aérosols. Les broyeurs, que l'on peut utiliser maintenant pour traiter de petits ou de gros volumes de matériel biologique, peuvent également entraîner la formation d'aérosols.

Lorsque des homogénéiseurs sont utilisés pour traiter du matériel contenant des micro-organismes du groupe de risque 3, ils doivent toujours être chargés et réouverts dans une enceinte de sécurité biologique.

Les générateurs d'ultrasons peuvent entraîner la formation d'aérosols. Ils seront utilisés dans des enceintes de sécurité biologique ou couverts par un écran protecteur pendant l'utilisation. L'écran et l'extérieur du générateur d'ultrasons seront décontaminés après usage.

Anses à usage unique

L'avantage des anses à usage unique tient à ce qu'elles n'ont pas besoin d'être passées à la flamme et qu'elles peuvent donc être utilisées dans des enceintes de sécurité biologique où les becs Bunsen et les micro-incinérateurs perturberaient le flux laminaire. Ces anses seront mises à tremper dans un désinfectant après usage et éliminées selon la procédure applicable aux déchets contaminés (voir chapitre 3).

Micro-incinérateurs

Les micro-incinérateurs fonctionnant au gaz ou à l'électricité comportent une protection en verre au borosilicate ou en céramique qui réduit les projections et la dispersion du matériel infecté lorsque les anses sont stérilisées. Ils peuvent cependant perturber le flux laminaire et doivent donc être disposés vers le fond du plan de travail de l'enceinte.

Equipements et vêtements de protection individuelle

Les équipements et vêtements destinés à la protection individuelle constituent une barrière matérielle qui réduit le risque d'exposition aux aérosols, aux éclaboussures ou encore le risque d'inoculation accidentelle. Ces équipements ou vêtements doivent être portés pour travailler au laboratoire. Avant de quitter le laboratoire, il faut les ôter puis se laver les mains. Le tableau 11 décrit succintement quelques types d'équipement de protection utilisés au laboratoire et les risques contre lesquels ils protègent.

Blouses, sarraus, combinaisons et tabliers de laboratoire

Il est préférable que les blouses de laboratoire soient entièrement boutonnées. Cela étant, les sarraus ou les combinaisons à manches longues boutonnées sur l'arrière protègent mieux que les blouses de laboratoire et ont la préférence dans les laboratoires de microbiologie ou pour travailler avec une enceinte de sécurité biologique. Si nécessaire, on peut porter un tablier sur la blouse ou le sarrau pour mieux se protéger en cas de renversement de produits chimiques ou de matériel biologique comme le sang ou les milieux de culture liquides. L'établissement doit disposer d'un service de blanchisserie sur place ou à proximité.

Les blouses de laboratoires, sarraus, combinaisons ou tabliers ne doivent pas être portés hors des locaux du laboratoire.

Lunettes à coques, lunettes de sécurité et écrans faciaux

Le choix d'un équipement destiné à protéger les yeux et la face contre les éclaboussures, les projections ou les chocs dépend de la nature des activités auxquelles se livre l'opérateur. Il existe des lunettes de vue ou des lunettes non correctrices en matériau incassable dont la monture est spécialement conçue pour que les verres soient montés par l'avant et qui sont incurvées ou dotées d'écrans latéraux (lunettes de sécurité). Ces lunettes de sécurité ne protègent pas très bien contre les éclaboussures ou projections, même quand elles sont dotées d'écrans latéraux. Pour se protéger contre les projections et les chocs, il faut porter des lunettes à coques, le cas échéant par dessus les lunettes de vue ou les lentilles de contact (lesquelles ne protègent pas des risques chimiques ou biologiques). Les écrans faciaux (visières) sont en plastique incassable, ils s'adaptent sur le visage et sont maintenus au moyen de sangles ou d'un serre-tête.

Les lunettes à coques et les lunettes de sécurité ne doivent pas être portées hors des locaux du laboratoire.

Tableau 11. ***Les équipements de protection individuelle***

EQUIPEMENT	RISQUE ÉVITÉ	CARACTÉRISTIQUES DE SÉCURITÉ
Blouses et sarraus de laboratoire	Contamination des vêtements	• Boutonnage par l'arrière • Couvrent les vêtements de ville
Tabliers de plastique	Contamination des vêtements	• Etanches à l'eau
Chaussures	Chocs et éclaboussures	• Bout fermé
Lunettes à coques	Chocs et éclaboussures	• Verres antichocs (doivent être correcteurs ou portés par dessus les lunettes de vue)
Lunettes de sécurité	Chocs	• Verres antichocs (doivent être correcteurs) • Ecrans latéraux
Ecrans faciaux	Chocs et éclaboussures	• Protègent entièrement le visage • S'enlèvent facilement en cas d'accident
Appareils et masques respiratoires	Inhalation d'aérosols	• Différents modèles : jetable à usage unique; avec masque complet ou demi-masque et cartouche d'épuration de l'air; à adduction d'air filtré à pression positive intermittente; à adduction d'air
Gants	Contact direct avec des micro-organismes Coupures	• Jetables, certifiés de qualité microbiologique, en PVC, latex ou polyacrylonitrile • Protection des mains • A mailles

Appareils respiratoires

Une protection respiratoire peut se révéler nécessaire lorsqu'on procède à des manipulations particulièrement dangereuses (par ex. le nettoyage d'une surface où du matériel infectieux a été répandu). Le choix de tel ou tel appareil dépend de la nature du danger. Certains de ces appareils sont munis de filtres interchangeables pour la protection contre les gaz, les vapeurs, les particules et les micro-organismes. Il est impératif d'utiliser un filtre adapté au type d'appareil respiratoire utilisé. Pour une protection optimale, il faut veiller à bien adapter le masque à la face de l'utilisateur et procéder à un essai. Il existe également des appareils respiratoires totalement

autonomes alimentés en air par un système intégré; ces dispositifs assurent une protection totale. Pour choisir l'appareil qui convient, il est prudent de s'adresser à un spécialiste qualifié, par exemple un ingénieur hygiène et sécurité. Les masques chirurgicaux n'ont d'autre but que de protéger le patient et ne confèrent aucune protection respiratoire à ceux qui les portent. Il existe des appareils respiratoires jetables à usage unique (ISO 13.340.30) qui sont conçus pour protéger contre l'exposition aux agents biologiques.

Les appareils respiratoires ne doivent pas être portés hors des locaux du laboratoire.

Gants

Les mains peuvent être contaminées au cours de certaines manipulations. Elles sont également exposées aux coupures et aux piqûres. Les gants de type chirurgical certifiés de qualité microbiologique, en latex, PVC ou polyacrylonitrile sont très utilisés pour les travaux de laboratoire en général, comme pour la manipulation d'agents infectieux ou de sang et de liquides organiques contaminés. On fait également usage de gants réutilisables, mais il faut veiller à les ôter correctement et à les laver, nettoyer et désinfecter scrupuleusement.

Lorsqu'on a manipulé du matériel infectieux, travaillé avec une enceinte de sécurité biologique ou qu'on s'apprêter à quitter le laboratoire, il faut ôter les gants et se laver soigneusement les mains. Les gants jetables qui ont été utilisés doivent être éliminés avec les déchets infectieux.

Des cas de réactions allergiques telles que dermatites ou hypersensibilisation immédiate ont été observés chez certains personnels de laboratoire ou d'autres travailleurs qui avaient porté des gants en latex, notamment des gants poudrés. On devrait pouvoir disposer d'autres gants que des gants poudrés en latex.

Lorsqu'il y a risque de coupure, comme cela peut être le cas à l'occasion d'une autopsie, il faut porter des gants en mailles d'acier inoxydable. Il est toutefois à noter que ces gants protègent contre les coupures ou les entailles mais pas contre les piqûres.

Les gants ne doivent pas être portés hors des locaux du laboratoire.

Pour de plus amples informations, le lecteur est prié de se reporter aux références *12*, *17* et *18*.

PARTIE IV

Bonnes techniques microbiologiques

12. Techniques de laboratoire

L'erreur humaine, une mauvaise technique et le mauvais usage des équipements et de l'appareillage sont à l'origine de la plupart des lésions et infections attribuables aux activités exercées dans un laboratoire. On trouvera dans le présent chapitre un recueil de techniques destinées à éviter ou à réduire au minimum les problèmes de cette nature qui surviennent le plus fréquemment.

Règles de sécurité pour la manipulation des échantillons au laboratoire

Si le prélèvement, le transport et la réception des échantillons au laboratoire ne sont pas effectués correctement, il existe un risque d'infection pour le personnel.

Conteneurs à échantillons

Les conteneurs à échantillons peuvent être en verre ou de préférence en matière plastique. Ils doivent être solides et ne pas fuir lorsque le bouchon ou le capuchon est placé correctement. L'extérieur du conteneur doit être propre, sans trace de matériel. Les conteneurs doivent être correctement étiquetés pour faciliter l'identification. Les formulaires de demandes d'échantillons ou les fiches techniques ne doivent pas servir à emballer les conteneurs, mais seront placés dans des enveloppes séparées, de préférence résistantes à l'eau.

Transport des échantillons à l'intérieur de l'établissement

Pour éviter qu'il y ait des fuites ou du matériel répandu accidentellement, on utilisera des conteneurs secondaires, des boîtes par exemple, munis de portoirs de façon que le récipient contenant l'échantillon ne se renverse pas. Les conteneurs secondaires peuvent être en métal ou en matière plastique, mais doivent être autoclavables ou résistants aux désinfectants chimiques et le couvercle doit de préférence être muni d'un joint d'étanchéité. Ils seront régulièrement décontaminés.

Réception des échantillons

Les laboratoires qui reçoivent un grand nombre d'échantillons devront réserver une pièce ou une zone particulière à cet effet.

Ouverture des colis

Le personnel qui reçoit et défait l'emballage des échantillons doit connaître les risques qu'il court et on doit lui avoir appris à respecter les précautions d'usage (*2*),

notamment en présence d'un conteneur brisé ou qui fuit. Les conteneurs primaires doivent être ouverts dans une enceinte de sécurité biologique. Le personnel doit avoir des désinfectants à sa disposition.

Utilisation des pipettes et des dispositifs de pipettage

1. On utilisera toujours un dispositif de pipettage (pipetteur, propipette). Le pipettage à la bouche doit être interdit.
2. Toutes les pipettes doivent être cotonnées pour réduire la contamination du dispositif.
3. Ne jamais souffler dans une pipette placée dans un liquide contenant des agents infectieux.
4. Les matériels infectieux ne seront jamais mélangés par aspirations et refoulements successifs.
5. Ne pas souffler dans les pipettes pour en chasser le liquide.
6. Les pipettes à deux traits sont préférables aux autres, puisqu'on n'est pas obligé de souffler pour les vider.
7. Les pipettes contaminées seront complètement immergées dans un désinfectant approprié placé dans un récipient incassable. On les laissera tremper suffisamment longtemps avant de les éliminer.
8. Un récipient pour les pipettes usagées sera placé à l'intérieur de l'enceinte de sécurité biologique (et non à l'extérieur).
9. On ne doit pas utiliser de seringue munie d'une aiguille hypodermique pour pipetter.
10. Il existe des dispositifs qui permettent d'ouvrir les flacons capsulés au moyen d'une pipette, ce qui évite l'utilisation des aiguilles hypodermiques et des seringues.
11. Pour éviter la dispersion du matériel infectieux qui tomberait accidentellement de la pipette, on placera sur le plan de travail un matériau absorbant qui sera ensuite éliminé selon la procédure applicable aux déchets infectieux.

Comment éviter la dissémination de matériel infectieux

1. Pour éviter que les anses de transfert ne répandent prématurément leur contenu, il faut que l'anneau ait un diamètre de 2 à 3 mm et qu'il soit entièrement fermé. Le manche ne doit pas dépasser 6 cm de long pour réduire le plus possible les vibrations.
2. On évitera le risque de projections de matériel infectieux par la flamme nue d'un bec Bunsen en utilisant un micro-incinérateur pour stériliser les anses de transfert. Toutefois, il est préférable d'utiliser des anses à usage unique qui n'ont pas besoin d'être restérilisées.
3. En séchant les échantillons d'expectorations, on s'efforcera d'éviter la formation d'aérosols.
4. Les échantillons et les cultures destinés à être autoclavés ou éliminés seront placés dans des conteneurs étanches, par exemple des sacs poubelle de laboratoire. Il faut en fermer l'extrémité avec du ruban adhésif autoclavable avant de les jeter dans les poubelles.

5. Les zones de travail doivent être décontaminées avec un désinfectant approprié à la fin de chaque période de travail.

Pour de plus amples informations, le lecteur est prié de consulter la référence (*12*).

Utilisation des enceintes de sécurité biologique

1. L'utilisation et les contraintes des enceintes de sécurité biologique seront expliquées à tous les utilisateurs potentiels (voir chapitre 10), en se référant aux normes nationales et à la documentation appropriée. Des protocoles écrits, des manuels d'hygiène et sécurité ou des manuels d'utilisation seront remis au personnel. Il doit être clairement expliqué, en particulier, que l'enceinte ne protège pas l'opérateur contre les éclaboussures, la casse ou les erreurs de manipulation.
2. L'enceinte ne doit pas être utilisée si elle ne fonctionne pas correctement.
3. Le panneau d'observation vitré ne doit pas être ouvert lorsque l'enceinte est en fonctionnement.
4. Pour travailler, on conservera dans l'enceinte le moins possible d'appareils et de matériel. Il ne faut pas bloquer la circulation de l'air dans le volume ou la gaine arrière de l'enceinte.
5. Il ne faut pas utiliser de becs Bunsen dans l'enceinte. En effet, la chaleur dégagée dévierait le flux laminaire et pourrait endommager les filtres. On peut se servir d'un micro-incinérateur mais les anses jetables stériles sont préférables.
6. La totalité des opérations seront réalisées au centre ou dans la partie arrière du plan de travail et devront être visibles par le panneau d'observation.
7. Il faut éviter qu'il y trop de passages derrière l'opérateur.
8. L'opérateur ne doit pas perturber le flux laminaire en passant les bras dans l'enceinte ou en les retirant à plusieurs reprises.
9. Il ne faut pas bloquer les grilles en entassant des notes, des pipettes ou d'autres objets car cela a pour effet de perturber la circulation de l'air et risque d'exposer l'opérateur et le matériel à une contamination.
10. Une fois la manipulation achevée et à la fin de la journée de travail, il faut désinfecter la surface de l'enceinte avec un produit approprié.
11. Le ventilateur de l'enceinte doit continuer à fonctionner au moins 5 minutes après la fin de la manipulation.
12. Il ne faut jamais introduire de paperasse dans une enceinte de sécurité biologique.

Des informations complémentaires sur les enceintes de sécurité biologique sont données au chapitre 10.

Comment éviter l'ingestion de matériel infectieux et le contact avec la peau et les yeux

1. Les particules et les gouttelettes de grande taille (>5 µm) formées pendant les manipulations de microbiologie se déposent rapidement sur la paillasse et les

mains de l'opérateur, aussi celui-ci doit-il porter des gants jetables et éviter de porter ses mains à son visage, à sa bouche et à ses yeux.
2. Il ne faut pas consommer ou conserver de la nourriture ou des boissons dans le laboratoire.
3. Il ne faut pas mettre dans sa bouche des objets tels que crayons ou stylos ni mâcher du chewing-gum lorsqu'on se trouve dans le laboratoire.
4. Il ne faut pas se maquiller dans le laboratoire.
5. Il convient d'utiliser un dispositif pour se protéger le visage, la bouche et les yeux (écran facial ou autre) pendant toute opération risquant de donner lieu à des projections de matériel infectieux.

Comment éviter l'inoculation accidentelle de matériel infectieux

1. Si l'on effectue les différentes manipulations et opérations avec le soin voulu, on peut éviter de s'inoculer accidentellement du matériel infectieux avec des débris de verre. De toute façon, il est préférable de remplacer le verre par du plastique lorsque cela est possible.
2. Un accident avec des aiguilles ou seringues hypodermiques, des pipettes Pasteur en verre ou du verre brisé peut entraîner l'inoculation de matériel infectieux.
3. Les piqûres d'aiguille peuvent être évitées : a) en limitant au minimum nécessaire l'utilisation des seringues et des aiguilles (il existe des dispositifs simples qui permettent d'ouvrir les flacons capsulés et d'utiliser alors une pipette plutôt qu'une seringue); b) en utilisant des dispositifs spéciaux de protection lorsque l'emploi d'une seringue est nécessaire.
4. Il ne faut jamais remettre l'embout sur l'aiguille. Le matériel à usage unique doit être jeté dans des conteneurs spéciaux imperforables (anti-piques) munis d'un couvercle.
5. On remplacera les pipettes Pasteur en verre par leur équivalent en matière plastique.

Séparation du sérum

1. Cette opération ne sera effectuée que par un personnel spécialement formé.
2. Il faut porter des gants ainsi qu'un dispositif pour protéger les yeux et les muqueuses.
3. Les projections et les aérosols ne peuvent être évités ou réduits qu' au moyen d'une bonne technique. Le sang et le sérum seront pipettés avec soin et non versés d'un récipient dans l'autre. Le pipettage à la bouche est interdit.
4. Après usage, les pipettes seront plongées complètement dans un bain désinfectant approprié. Il faut les laisser tremper pendant une durée suffisante avant élimination ou lavage et stérilisation en vue de leur réutilisation.
5. Les tubes à échantillons contenant des caillots de sang ou autre et destinés à être éliminés seront rebouchés avec leur capuchon et placés dans un récipient étanche approprié dans lequel ils seront autoclavés et incinérés.
6. Il faut disposer de désinfectants appropriés pour nettoyer les éclaboussures ou les liquides répandus (voir chapitre 14).

Utilisation des centrifugeuses

1. Le bon fonctionnement mécanique des centrifugeuses de laboratoire est un élément indispensable de la sécurité microbiologique.
2. La centrifugeuse doit être utilisée conformément aux instructions du fabricant.
3. La centrifugeuse sera placée à une hauteur telle que l'opérateur puisse voir à l'intérieur de la cuve pour disposer correctement les godets (ou les pots ou nacelles selon le cas) sur les tourillons.
4. Les tubes à centrifuger ainsi que les récipients contenant les échantillons devront être en verre épais ou de préférence en matière plastique et ils devront être inspectés avant usage à la recherche de défauts éventuels.
5. Il faut que les tubes à centrifuger ou les récipients contenant les échantillons soient bien fermés (si possible avec un bouchon vissé).
6. Les godets doivent être remplis, équilibrés, fermés et ouverts dans une enceinte de sécurité biologique.
7. Les pots (godets ou nacelles, etc.) fixés sur les tourillons seront appariés d'après leur poids et correctement équilibrés une fois les tubes en place.
8. Le volume à laisser libre entre la surface du liquide et le bord du tube à centrifuger doit être indiqué dans les instructions du fabricant.
9. Pour l'équilibrage des pots vides, on utilisera de l'eau distillée ou de l'alcool (propanol à 70 %). Les solutés salins ou les solutions d'hypochlorite sont à éviter car ils corrodent les métaux.
10. Des pots à centrifuger fermant hermétiquement (pots de sécurité) doivent être utilisés pour les micro-organismes appartenant aux groupes de risque 3 et 4.
11. Si l'on utilise des rotors angulaires, il faut veiller à ce que les tubes ne soient pas trop remplis pour éviter le risque de fuite.
12. L'intérieur de la cuve de la centrifugeuse sera inspecté tous les jours à la recherche de taches ou de souillures au niveau du rotor. En présence de salissures manifestes, les protocoles de centrifugation seront réexaminés.
13. Les godets (pots ou nacelles) ainsi que le rotor seront inspectés chaque jour à la recherche de signes de corrosion ou de fissures, si fines soient-elles.
14. Les godets (pots ou nacelles), le rotor et la cuve de la centrifugeuse seront décontaminés après chaque usage.
15. Après utilisation, les pots seront retournés et conservés ainsi pour que le liquide d'équilibrage puisse sécher.
16. Des particules infectieuses aéroportées sont parfois éjectées à la centrifugation. Ces particules se déplacent à une vitesse trop élevée pour pouvoir être captées par le courant d'air si la centrifugeuse est placée dans une enceinte de sécurité biologique traditionnelle de classe I ou II à ouverture frontale. En plaçant la centrifugeuse dans une enceinte de classe III, on évite la trop grande dispersion des aérosols émis par l'appareil. Toutefois, une bonne technique de centrifugation et l'utilisation de tubes soigneusement fermés offrent une protection satisfaisante contre les aérosols infectieux et les particules en suspension.

Utilisation des homogénéiseurs, des agitateurs secoueurs, des mélangeurs et des générateurs d'ultrasons

1. Les homogénéiseurs domestiques (utilisés à la cuisine) ne seront pas utilisés au laboratoire car ils peuvent fuir ou donner lieu à la formation d'aérosols. Les homogénéiseurs, mélangeurs et broyeurs de laboratoire présentent moins de danger.
2. Les couvercles, bols, fioles ou flacons doivent être en bon état, sans défaut ni déformation. Le couvercle doit être parfaitement adapté et le joint en bon état.
3. Lorsque les homogénéiseurs, agitateurs ou générateurs d'ultrasons sont en marche, la pression monte à l'intérieur du bol. Des aérosols contenant des germes infectieux risquent alors de s'échapper par l'interstice entre le couvercle et le récipient. Les bols en plastique et particulièrement en polytétrafluoréthylène (PTFE) sont recommandés car le verre peut se briser, libérant le matériel infectieux et risquant de blesser l'opérateur.
4. Pendant l'utilisation, ces appareils doivent être couverts d'un boîtier transparent robuste en matière plastique qui sera désinfecté après usage. Si possible, on fera fonctionner l'appareil recouvert de son boîtier en plastique à l'intérieur d'une enceinte de sécurité biologique.
5. L'opération terminée, le conteneur sera ouvert dans une enceinte de sécurité biologique.
6. Une protection auditive doit être fournie au personnel qui utilise des générateurs d'ultrasons.

Utilisation des broyeurs de tissus

1. Les broyeurs en verre seront enveloppés dans un tampon de matériau absorbant et tenus par un opérateur ganté. Les broyeurs en matière plastique (PTFE) sont plus sûrs.
2. Les broyeurs de tissus seront utilisés et ouverts dans une enceinte de sécurité biologique.

Entretien et utilisation des réfrigérateurs et congélateurs

1. Les réfrigérateurs, les congélateurs et les enceintes à dioxyde de carbone solide (carboglace) seront dégivrés et nettoyés périodiquement et les ampoules, les tubes, etc. cassés pendant la conservation, retirés. On portera une protection faciale et des gants en caoutchouc résistants pour effectuer ce travail. Après nettoyage, les surfaces intérieures de l'enceinte seront désinfectées.
2. Tous les récipients conservés dans les réfrigérateurs, etc. doivent être clairement étiquetés, en indiquant le nom scientifique du contenu, la date de stockage et le nom de la personne qui les a stockés. Le matériel ancien ou sans étiquette sera autoclavé et éliminé.
3. Il faut tenir un inventaire du contenu des congélateurs.

4. Les solutions inflammables ne doivent pas être conservées dans un réfrigérateur qui n'est pas antidéflagrant. Une étiquette de mise en garde sera apposée à cet effet sur la porte des réfrigérateurs.

Ouverture des ampoules contenant du matériel infectieux lyophilisé

On devra prendre des précautions lorsqu'on ouvre des ampoules de matériel lyophilisé car l'entrée brutale de l'air, alors que l'intérieur de l'ampoule peut se trouver à une pression inférieure, risque de disperser une partie de son contenu dans l'atmosphère. Les ampoules doivent toujours être ouvertes dans une enceinte de sécurité biologique. Il est recommandé de procéder comme suit :

1. Décontaminer tout d'abord l'extérieur de l'ampoule.
2. Faire un trait de lime sur le tube à peu près au milieu du tampon de coton ou de cellulose, le cas échéant.
3. Envelopper l'ampoule avec de l'ouate imbibée d'alcool pour se protéger les mains avant de la briser au niveau du trait de lime.
4. Retirer délicatement la partie supérieure et traiter comme du matériel contaminé.
5. Si le tampon de coton est encore en place au-dessus du contenu de l'ampoule, le retirer avec des pinces stériles.
6. Mettre le lyophilisat en suspension en versant lentement le liquide destiné à cet effet de manière à éviter la formation de mousse.

Stockage des ampoules contenant du matériel infectieux

Les ampoules contenant du matériel infectieux ne doivent jamais être immergées dans de l'azote liquide, les ampoules mal scellées ou fissurées risquant de se briser ou d'exploser à la sortie. S'il est nécessaire d'atteindre des températures très basses, les ampoules ne seront conservées que dans la phase gazeuse, au-dessus de l'azote liquide. On peut aussi stocker le matériel infectieux dans des cryostats ou sur carboglace. Le personnel chargé de retirer les ampoules cryoconservées doit se protéger les yeux et les mains.

La surface extérieure des ampoules cryoconservées sera désinfectée lorsqu'elles seront retirées après stockage.

Précautions d'usage pour manipuler du sang et autres liquides biologiques, des tissus et des excreta

Les précautions d'usage indiquées ci-dessous (qui incluent les «précautions universelles» (*19*)) sont destinées à réduire le risque de transmission de micro-organismes dont l'origine est connue ou inconnue (*2*).

Récolte, étiquetage et transport d'échantillons

1. Il faut observer ces précautions d'usage dans tous les cas et porter des gants quelle que soit la manipulation.

2. Le prélèvement de sang sur des malades ou des animaux doit être effectué par du personnel expérimenté.
3. Pour les ponctions veineuses, on remplacera la seringue classique par un dispositif de sécurité à usage unique (tube à prélèvement sous vide) qui permet de prélever le sang directement dans un tube de transport ou de culture fermé qui met ensuite l'aiguille automatiquement hors d'usage (par obturation ou rétraction).
4. Les tubes devront être placés dans des conteneurs appropriés pour être transportés jusqu'au laboratoire (voir le chapitre 15 pour les conditions à observer durant le transport) ou dans les locaux mêmes (se reporter à la section du présent chapitre consacrée au transport des échantillons à l'intérieur de l'établissement). Les formulaires de demande devront être placés dans des sacs ou des enveloppes séparés résistants à l'eau.
5. Le personnel qui réceptionne les échantillons **ne doit pas** ouvrir ces sacs.

Ouverture des tubes à échantillon et échantillonnage

1. Les tubes à échantillon seront ouverts dans une enceinte de sécurité biologique.
2. Le port de gants est obligatoire. Il est également recommandé de se protéger les yeux et les muqueuses (au moyen de lunettes à coque ou d'un écran facial).
3. Les vêtements protecteurs seront complétés par un tablier en plastique.
4. Pour éviter éclaboussures ou projections, le bouchon sera saisi avec une feuille de papier ou un morceau de gaze.

Verre et objets tranchants ou pointus

1. Dans la mesure du possible, le verre sera remplacé par du plastique. Seul le verre de qualité « laboratoire » (au borosilicate) devra être utilisé et le matériel ébréché ou fêlé sera jeté.
2. Il ne faut pas utiliser des aiguilles hypodermiques en guise de pipettes (voir également, dans le présent chapitre, la section intitulée: Comment éviter l'inoculation accidentelle de matériel infectieux).

Frottis/gouttes épaisses

La fixation et la coloration des échantillons de sang, d'expectorations et de selles aux fins d'examen microscopique ne tuent pas obligatoirement tous les micro-organismes ou les virus qu'ils contiennent. Il faut donc manipuler les frottis et les gouttes épaisses avec des pinces, les conserver de manière appropriée et les décontaminer ou les autoclaver avant élimination.

Appareils automatiques (générateurs d'ultrasons, agitateurs vortex)

1. Il faut utiliser des appareils confinés pour éviter la dissémination de gouttelettes ou d'aérosols.
2. Les effluents seront recueillis dans des récipients fermés pour autoclavage ultérieur et élimination.

3. L'appareillage doit être désinfecté à l'issue de chaque séance de travail, en suivant les instructions du fabricant.

Tissus

1. Il faut utiliser des fixateurs formolés.
2. Les coupes à la congélation doivent être évitées. Si nécessaire, on protégera le cryostat au moyen d'un écran et l'opérateur devra porter un écran facial. Pour la décontamination, on remontera la température de l'appareil à 20 °C.

Décontamination

Les hypochlorites et les désinfectants puissants sont recommandés pour la décontamination. Une solution d'hypochlorite fraîchement préparée doit contenir 1g/litre de chlore actif lorsqu'elle est destinée à l'usage général et 5g/litre si elle est utilisée pour nettoyer du sang répandu. Le glutaraldéhyde peut être utilisé pour décontaminer les surfaces (voir chapitre 14).

Précautions à prendre avec du matériel pouvant contenir des prions

Les prions (également désignés sous le nom de « virus lents ») sont associés aux encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST), en particulier à la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ ; y compris la nouvelle variante), à la maladie de Gertsmann-Sträussler-Scheinker, à l'insomnie fatale familiale et au kuru chez l'homme, à la tremblante chez les ovins et les caprins, à l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) chez les bovins et à d'autres encéphalopathies transmissibles des cervidés, de l'élan et du vison. Si l'on connaît des cas de transmission à l'homme de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, il semble qu'il n'y ait pas de cas prouvé d'infection acquise au laboratoire. La prudence impose néanmoins d'observer certaines précautions lors de la manipulation de matériel biologique provenant de sujets humains ou d'animaux potentiellement infectés.

Lorsqu'on envisage des travaux sur du matériel biologique susceptible de contenir un agent associé à des EST, le choix du niveau de sécurité biologique va dépendre de la nature de l'agent et des échantillons à étudier et il doit se faire en consultation avec les autorités nationales compétentes. C'est dans les tissus du système nerveux central que l'on trouve les concentrations les plus élevées de prions. Les études effectuées sur l'animal indiquent toutefois qu'il est probable que de fortes concentrations de prions soient également présentes dans la rate, le thymus, les ganglions lymphatiques et les poumons. Selon des travaux récents, des prions présents dans les muscles squelettiques et dans les tissus musculaires de la langue pourraient également constituer un risque de contamination (*20–23*).

Comme il est difficile d'inactiver complètement les prions, il convient d'insister sur la nécessiter d'utiliser autant que possible des instruments jetables et de prévoir un dispositif de protection également jetable pour couvrir le plan de travail de l'enceinte de sécurité biologique.

La principale précaution à observer par l'opérateur consiste à éviter l'ingestion de matériel contaminé ainsi que toute piqûre cutanée. Ces agents n'étant pas détruits par les procédés habituels de désinfection et de stérilisation utilisés au laboratoire, il convient de prendre les précautions complémentaires suivantes:

1. Il est vivement recommandé d'utiliser des équipements spécialement dédiés à ces travaux, c'est-à-dire qui ne sont pas partagés avec les autres laboratoires de l'établissement.
2. Le port de vêtements protecteurs (sarraus et tabliers) et de gants (gants d'autopsie complétés par des gants en mailles d'acier) est obligatoire.
3. Il est vivement recommandé d'utiliser du matériel jetable en matière plastique, qui puisse être traité et éliminé comme déchets secs.
4. Les appareils automatiques de traitement des tissus ne seront pas utilisés en raison des difficultés de désinfection. On utilisera à la place des bocaux et des béchers.
5. Toutes les manipulations seront effectuées dans une enceinte de sécurité biologique.
6. On veillera scrupuleusement à éviter la formation d'aérosols ainsi que les coupures et les piqûres cutanées.
7. Les tissus fixés au formol seront considérés comme encore infectieux, même après fixation prolongée.
8. Les échantillons histologiques contenant des prions sont largement inactivés par un traitement de 1h à l'acide formique à 96 % (*24*), (*25*).
9. Les déchets résultant de la manipulation y compris les gants, les sarraus et les tabliers jetables devront être autoclavés dans un stérilisateur à vapeur pour charge poreuse, à la température de 134–137 °C, soit pendant un seul cycle de 18 minutes, soit pendant six cycles successifs de 3 minutes chacun, puis incinérés.
10. Les instruments et le matériel non jetable, comme les gants à mailles d'acier par exemple, doivent être rassemblés pour être décontaminés.
11. Les déchets liquides infectieux contaminés par des prions doivent être traités pendant 1 heure par une solution d'hypochlorite de sodium contenant 20 g/litre de chlore actif (2 %) (concentration finale).
12. Les techniques basées sur la vaporisation de paraformaldéhyde ne font pas baisser le titre des prions et ces derniers sont également résistants au rayonnement ultraviolet. Il faut néanmoins continuer à décontaminer les enceintes en utilisant les méthodes traditionnelles (par ex. fumigation au formaldéhyde) pour inactiver les autres agents pathogènes qui seraient présents.
13. Les enceintes de sécurité biologique et autres surfaces contaminées par des prions peuvent être décontaminées en leur appliquant pendant 1 heure une solution d'hypochlorite de sodium à 20 g/litre de chlore actif (2 %).
14. Les filtres à particules de haute efficacité (filtres HEPA) doivent être incinérés à une température minimum de 1000 °C une fois retirés. Avant d'incinérer le filtre, il est recommandé de procéder comme suit:

a. vaporiser une laque capillaire sur la face exposée du filtre avant de l'ôter;
b. « ensacher » le filtre pour l'enlever;
c. retirer le filtre du volume du travail en veillant à ce que la chambre de distribution et les gaines inaccessibles ne soient pas contaminées.

15. Les instruments doivent être immergés pendant une heure dans une solution d'hypochlorite de sodium à 20 g/litre de chlore actif (2 %), puis bien rincés à l'eau avant l'autoclavage.
16. Les instruments qui ne peuvent pas être autoclavés peuvent être nettoyés en les trempant à plusieurs reprises pendant 1 heure dans une solution d'hypochlorite de sodium à 20 g/litre de chlore actif (2 %). Un rinçage soigneux est ensuite nécessaire pour éliminer les résidus d'hypochlorite.

Pour de plus amples informations sur la conduite à tenir avec les agents non conventionnels, le lecteur est prié de se reporter aux références *12*, *26* et *27*.

13. Plans d'urgence et conduite à tenir en cas d'urgence

Tous les laboratoires qui travaillent sur des micro-organismes infectieux doivent instituer les mesures de sécurité qu'exigent les risques présentés par les germes et les animaux manipulés.

Chaque fois qu'un établissement manipule ou conserve des micro-organismes des groupes de risque 3 ou 4 (laboratoire de base – sécurité biologique niveau 2, laboratoire de confinement – sécurité biologique niveau 3 et laboratoire de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4), il est indispensable d'établir par écrit un plan d'urgence pour faire face au accidents qui pourraient se produire dans le laboratoire ou l'animalerie. Les autorités sanitaires nationales ou locales doivent être associées à l'élaboration de ce plan de préparation aux situations d'urgence.

Plan d'urgence

Le plan doit prévoir la conduite à tenir dans différentes situations :

1. Mesures de sécurité en cas de catastrophe, naturelle ou autre : incendie, inondation, séisme ou explosion par exemple.
2. Evaluation du risque biologique.
3. Mesures à prendre d'exposition accidentelle et décontamination.
4. Evacuation d'urgence du personnel et des animaux.
5. Traitement médical d'urgence des personnes exposées et des blessés.
6. Surveillance médicale des personnes exposées.
7. Prise en charge clinique des personnes exposées.
8. Enquête épidémiologique.
9. Suivi de la situation après l'accident.

Lors de l'élaboration de ce plan, il faudra envisager d'inclure les points suivants :

1. Identification des micro-organismes à haut risque.
2. Localisation des zones à haut risque telles que laboratoires, aires de stockage, animaleries.
3. Idenfication du personnel et des populations à risque.
4. Identification des responsables et de leurs responsabilités : délégué à la sécurité biologique, équipe de sécurité, autorités sanitaires locales, cliniciens, microbiologistes, vétérinaires, épidémiologistes, pompiers et police.
5. Liste des moyens disponibles pour assurer le traitement et l'isolement des personnes exposées ou contaminées.

6. Transport des personnes exposées ou contaminées.
7. Liste des sources d'immunsérums, de vaccins, de médicaments, de matériel et de fournitures spécialisés.
8. Approvisionnement en équipements et matériel de secours, par exemple vêtements protecteurs, désinfectants, matériel et fournitures pour la décontamination.

Conduite à tenir en cas d'urgence dans un laboratoire de microbiologie

Accidents par inoculation, coupure et érosion

La personne accidentée doit enlever ses vêtements de protection, laver ses mains ainsi que la ou les zone(s) atteinte(s), appliquer un désinfectant cutané approprié et si nécessaire consulter un médecin. Un rapport indiquant la cause de la lésion et la nature du micro-organisme en cause sera adressé à qui de droit et un dossier médical complet sera établi de manière appropriée.

Accidents par ingestion de matériel potentiellement infectieux

Il faut ôter ses vêtements protecteurs et consulter un médecin. Un rapport indiquant la nature du matériel ingéré et les circonstances de l'accident sera adressé à qui de droit et un dossier médical complet sera établi de manière appropriée.

Formation d'aérosols potentiellement dangereux (hors d'une enceinte de sécurité)

Tout le personnel devra immédiatement évacuer la zone touchée et toute personne exposée devra être adressée à un médecin. Le chef de laboratoire et le délégué à la sécurité biologique seront immédiatement informés de l'incident. Personne ne doit entrer dans la pièce pendant une durée suffisante (par ex. 1 h) pour permettre l'évacuation de l'aérosol et le dépôt des particules lourdes. Si le laboratoire n'est pas doté d'un système central de ventilation, la réintégration des locaux sera retardée (par ex. de 24 h).

Des panneaux doivent être apposés pour indiquer que l'entrée est interdite. Au bout d'une période de temps appropriée, on procédera à la décontamination sous la surveillance du délégué à la sécurité biologique. Cette opération doit se faire en portant des vêtements protecteurs et une protection respiratoire appropriés.

Récipients cassés et substances infectieuses répandues

Les récipients cassés contaminés par des substances infectieuses et les substances infectieuses répandues accidentellement devront être recouverts d'un linge ou de papier absorbant sur lesquels on versera un désinfectant qu'on laissera reposer pendant une durée appropriée. Le linge ou le papier absorbant et le matériel cassé pourront ensuite être enlevés; les morceaux de verre seront manipulés avec une pince. On passera ensuite une serpillière imprégnée de désinfectant sur la zone contaminée. Si l'on utilise une pelle pour ramasser les morceaux de verre, il faudra la passer à l'autoclave ou la tremper dans un bain désinfectant efficace. Les linges, le papier et les serpillières utilisées pour le nettoyage devront être jetés dans une poubelle pour déchets contaminés. Toutes ces opérations doivent être effectuées avec des gants.

Si des documents, formulaires ou autres imprimés ou notes sont contaminés, ils seront recopiés et les originaux jetés dans une poubelle pour déchets contaminés.

Bris de tubes contenant du matériel potentiellement infectieux dans les centrifugeuses dépourvues de pots étanches

Si les tubes sont cassés ou présumés cassés pendant que la centrifugeuse tourne, arrêter le moteur et attendre 30 minutes avant d'ouvrir pour laisser reposer les suspensions. Si l'accident est découvert après l'ouverture de la centrifugeuse, refermer immédiatement le capot et attendre encore une trentaine de minutes. Dans les deux cas, il faut prévenir le délégué à la sécurité biologique.

Des gants résistants (par ex. en caoutchouc épais) couverts si nécessaires avec des gants à usage unique, doivent être portés pendant la totalité des opérations suivantes. Pour retirer les débris de verre, on utilisera des pinces, éventuellement garnies de coton.

Les tubes cassés, les morceaux de verre, les pots ou nacelles à centrifuger, les tourillons et le rotor seront placés dans un bain désinfectant non corrosif dont l'efficacité contre les germes concernés est connue (voir chapitre 14). Les tubes intacts et bouchés peuvent être placés dans un autre récipient contenant un désinfectant et récupérés ultérieurement.

La cuve de la centrifugeuse sera nettoyée avec le même désinfectant, convenablement dilué, après quoi on la nettoiera une seconde fois, on la rincera à l'eau et on la séchera. Tout le matériel utilisé pour le nettoyage sera considéré comme déchets contaminés.

Bris de tubes à l'intérieur de pots ou de nacelles à centrifuger étanches (de sécurité)

Tous les pots ou nacelles étanches doivent chargés et déchargés dans une enceinte de sécurité biologique. En cas de bris présumé dans un pot hermétique, il faudra desserrer de bouchon de sécurité et passer le pot ou la nacelle à l'autoclave. On peut aussi désinfecter le pot ou la nacelle de sécurité au moyen d'un désinfectant chimique.

Incendies et catastrophes naturelles

Les services de secours, pompiers notamment, doivent participer à l'élaboration des plans de préparation aux situations d'urgence. Ils doivent connaître à l'avance les pièces où se trouve du matériel potentiellement infectieux. Il y avantage à ce que le personnel de ces services visite le laboratoire pour prendre connaissance de son agencement et de son contenu.

Après une catastrophe naturelle, les services de secours locaux ou nationaux doivent être informés des dangers potentiels qui existent à l'intérieur ou au voisinage des bâtiments. Ils ne pourront y pénétrer qu'accompagnés d'un membre expérimenté du personnel. Le matériel infectieux devra être recueilli dans des conteneurs étanches ou des sacs jetables en matériau résistant. Il appartient à l'équipe de sécurité de

déterminer en fonction de la réglementation locale ce qui peut être récupéré et ce qui doit être jeté.

Services de secours : à qui s'adresser ?

Les numéros de téléphone et adresses suivantes seront placés bien en évidence dans les locaux de l'établissement :

1. Nom, adresse et plan d'accès de l'établissement ou du laboratoire (pas nécessairement connus par la personne qui appelle ou le service appelé).
2. Directeur de l'établissement ou du laboratoire.
3. Chef de laboratoire.
4. Délégué à la sécurité biologique.
5. Service incendie/pompiers
6. Hôpitaux, ambulances, personnel médical (nom des divers centres de soins, cliniques, services ou du personnel médical, si possible).
7. Police.
8. Médecin.
9. Technicien responsable.
10. Services des eaux, du gaz et de l'électricité.

Equipement et matériel de secours

Les équipements de secours suivants doivent être disponibles :

1. Trousse de premiers secours, comportant des antidotes universels et spécifiques.
2. Extincteurs appropriés et couvertures anti-feu.

La liste complémentaire ci-après, donnée à titre indicatif, pourra être adaptée à la situation locale :

1. Vêtements de protection totale (combinaisons, gants et cagoules – pour les accidents impliquant des micro-organismes appartenant aux groupes 3 et 4).
2. Masques respiratoires complets avec cartouche filtrante contre les produits chimiques et les particules.
3. Matériel pour la désinfection des salles, pulvérisateurs et vaporisateurs de formaldéhyde, par exemple.
4. Civière.
5. Outils, marteaux, haches, clés, tournevis, échelles, cordages par exemple.
6. Matériel de signalisation et de balisage.

Pour de plus amples informations, le lecteur est prié de se reporter aux références *12* et *28*.

14. Désinfection et stérilisation

La connaissance des principes de base de la désinfection et de la stérilisation est d'une importance cruciale pour la sécurité biologique au laboratoire. Comme des objets très souillés ne peuvent pas être désinfectés et stérilisés rapidement, il est tout aussi important de connaître les éléments de base du nettoyage préalable à la désinfection (prénettoyage). Sous ce rapport, les principes généraux exposés dans le présent chapitre sont applicables à toutes les catégories de germes pathogènes connus. C'est la nature du travail expérimental et des agents pathogènes manipulés qui détermine les besoins particuliers en matière de décontamination. Les indications générales qui sont données dans la suite de ce chapitre peuvent servir à mettre au point des façons de procéder normalisées ou plus spécifiques face aux dangers de nature biologique qui existent dans un laboratoire donné.

Le temps de contact nécessaire avec un désinfectant donné est propre à chaque substance et à chaque fabricant. C'est pourquoi toutes les recommandations relatives à l'utilisation des désinfectants doivent être conformes aux spécifications indiquées par le fabricant.

Définitions

Dans le domaine de la désinfection et de la stérilisation on a recours à une terminologie très variée. Les termes suivants sont parmi les plus couramment employés en sécurité biologique :

Anti-infectieux : Agent qui tue les micro-organismes ou en inhibe la croissance et la multiplication.

Antimicrobien : Terme souvent employé comme synonyme d' « anti-infectieux ».

Antiseptique : Substance qui inhibe la croissance et le développement des micro-organismes sans nécessairement les tuer. On applique en général les antiseptiques sur le revêtement cutané.

Biocide : Terme général qui désigne tout agent capable de tuer des micro-organismes.

Décontamination : Tout processus destiné à éliminer ou tuer des micro-organismes. Ce terme désigne également l'élimination ou la neutralisation de produits chimiques ou radioactifs dangereux.

Désinfectant : Substance chimique ou mélange de substances chimiques utilisés pour tuer des micro-organismes, mais pas nécessairement les spores. Les désinfectants sont généralement appliqués sur des surfaces ou objets inanimés.

Désinfection : Destruction, par des moyens physiques ou chimiques, de germes mais pas nécessairement de leurs spores.

Germicide chimique : Substance chimique ou mélange de substances utilisés pour tuer les micro-organismes.

Microbicide : Substance chimique ou mélange de substances chimiques destinés à tuer les micro-organismes. Ce terme est souvent utilisé à la place de « biocide », « germicide » ou « anti-infectieux », dont il est synonyme.

Sporocide : Substance chimique ou mélange de substances chimiques destinés à tuer les micro-organismes et leurs spores.

Stérilisation : Processus par lequel on tue ou élimine les micro-organismes et les spores de toute nature.

Nettoyage du matériel de laboratoire

Le nettoyage consiste à enlever les souillures, les matières organiques et les taches. On peut procéder par brossage, aspiration, dépoussiérage à sec, lavage à l'eau ou avec une éponge humide imprégnée d'eau savonneuse ou additionnée d'un détergent. La crasse, les excréments et les matières organiques peuvent abriter des micro-organismes et gêner l'action microbicide des décontaminants (antiseptiques, germicides chimiques ou désinfectants).

Un nettoyage préalable est nécessaire pour assurer une bonne désinfection ou une bonne stérilisation. Beaucoup de produits germicides ne sont actifs qu'à la condition d'être appliqués à des objets préalablement nettoyés. Ce prénettoyage doit être effectué avec précaution pour éviter de s'exposer aux agents infectieux.

Il faut qu'il y ait compatibilité chimique entre le matériel utilisé et les germicides qui seront utilisés ultérieurement pour le désinfecter. Il est assez courant d'utiliser le même germicide chimique pour le nettoyage préalable et la désinfection.

Germicides chimiques

De nombreuses substances chimiques peuvent être utilisées comme désinfectants ou antiseptiques. Chaque préparation doit toutefois être choisie avec soin en fonction des besoins spécifiques du laboratoire, parmi des produits commerciaux toujours plus nombreux et divers.

L'activité germicide de nombreux produits chimiques s'accélère et s'améliore lorsque la température s'élève. D'un autre côté, une température élevée peut provoquer une évaporation plus rapide et entraîner également la décomposition du produit. C'est pourquoi des précautions particulières doivent être prises pour le stockage et l'utilisation de ces produits dans les régions tropicales où leur durée de conservation risque de se trouver réduite en raison de la forte température ambiante.

Beaucoup de germicides peuvent être nocifs pour l'homme et l'environnement. Il faut donc les choisir, les stocker, les manipuler, les utiliser et les éliminer avec le plus grand soin, en respectant les instructions du fabricant. Lorsqu'on prépare des dilutions de germicides chimiques, il est recommandé, pour des raisons de sécurité individuelle, de porter des gants, un tablier et une protection oculaire.

Il n'est généralement pas nécessaire d'utiliser un germicide chimique pour le nettoyage habituel des sols, des murs, des équipements et du mobilier. On peut toutefois avoir avantage à le faire dans certains cas, par exemple pour juguler une flambée épidémique.

Une utilisation judicieuse des germicides chimiques contribue à la sécurité du lieu de travail en réduisant le risque de contamination par des agents infectieux. Dans la mesure du possible, on s'efforcera d'utiliser un nombre limité de produits pour faire des économies, faciliter l'inventaire des stocks et réduire la pollution de l'environnement.

On trouvera ci-après une description des divers types de germicides chimiques, avec des informations générales sur leurs applications et leur sécurité d'emploi. Sauf indication contraire, les concentrations sont données en poids par unité de volume (p/v). Le tableau 12 récapitule les dilutions recommandées pour les composés libérant du chlore.

Chlore (hypochlorite de sodium)

Le chlore, un oxydant à action rapide, est un germicide chimique à large spectre universellement disponible. Il est généralement vendu sous forme d'eau de Javel, une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium (NaOCl) que l'on peut diluer avec de l'eau pour obtenir différentes concentrations de chlore actif.

Tableau 12. ***Dilutions recommandées pour les composés libérant du chlore***

	SITUATION « PROPRE »[a]	SITUATION « SALE »[b]
Chlore actif nécessaire	0,1 % (1 g/l)	0,5 % (5 g/l)
Hypochlorite de sodium (5 % de chlore actif)	20 ml/l	100 ml/l
Hypochlorite de calcium (70 % de chlore actif)	1,4 g/l	7 g/l
Dichloroisocyanurate de sodium, poudre (60 % de chlore actif)	1,7 g/l	8,5 g/l
Dichloroisocyanurate de sodium, comprimés (1,5 g de chlore actif par comprimé)	1 comprimé/l	4 comprimés/l
Chloramine (25 % de chlore actif)[c]	20 g/l	20 g/l

[a] Après enlèvement des salissures les plus importantes.
[b] Pour verser directement, par ex. sur du sang ou avant l'élimination des salissures les plus importantes.
[c] Voir texte.

Les solutions d'hypochlorite utilisées comme agents de blanchiment sont fortement alcalines et corrodent les métaux. L'activité du chlore libre est réduite par la présence de matières organiques (protéines). Les solutions-mères ou les solutions de travail d'hypochlorite stockées dans des récipients ouverts dégagent du chlore, notamment à température élevée, ce qui réduit leur pouvoir germicide. La fréquence de remplacement des solutions de travail d'hypochlorite dépend de leur concentration initiale, des conditions ambiantes, ainsi que du type (avec ou sans couvercle) et de la taille des récipients dans lesquels elles sont conservées. A titre indicatif, les solutions dans lesquelles on met à tremper plusieurs fois par jour du matériel fortement souillé par des matières organiques doivent être remplacées tous les jours au minimum, celles dont la fréquence d'utilisation est moindre pouvant être conservées jusqu'à une semaine.

Comme désinfectant général, on utilisera une solution à 1 g/l de chlore actif. Pour nettoyer un produit répandu qui présente un risque biologique ou en présence de grandes quantités de matières organiques, il est recommandé d'utiliser une solution plus concentrée, contenant 5 g/l de chlore actif. Les solutions d'hypochlorite de sodium à usage domestique (eau de Javel) contiennent habituellement 50 g/l de chlore actif et doivent donc être diluées au 1:50 ou au 1:10 avant d'être utilisées, pour obtenir une concentration finale respectivement égale à 1 g/l et 5 g/l. Les solutions d'hypochlorite de sodium à usage industriel ont souvent une concentration de près de 120 g/l et doivent donc également être diluées pour obtenir les valeurs indiquées ci-dessus.

Les granulés ou comprimés d'hypochlorite de calcium ($Ca(ClO)_2$) contiennent généralement environ 70 % de chlore actif. Les solutions à 1,4 et 7,0 g/l préparées à l'aide de ces granulés ou comprimés contiendront donc respectivement 1,0 et 5 g/l de chlore actif.

L'eau de Javel n'est pas recommandée comme antiseptique, mais on peut l'utiliser comme désinfectant à usage général et pour faire tremper le matériel contaminé non métallique. En cas d'urgence, elle peut également être utilisée pour désinfecter l'eau de boisson, à la concentration finale de 1 à 2 mg/l de chlore actif.

Le chlore est extrêmement toxique. Il ne faut donc entreposer et utiliser les solutions d'hypochlorite que dans des locaux parfaitement ventilés. On ne doit pas non plus les mélanger à des acides pour éviter un dégagement rapide de chlore. Nombre de dérivés du chlore peuvent se révéler dangereux pour l'organisme humain et pour l'environnement, aussi faut-il éviter l'usage inconsidéré de désinfectants chlorés, comme l'eau de Javel par exemple.

Dichloroisocyanurate de sodium

Le dichloroisocyanurate de sodium se présente sous la forme d'une poudre contenant 60 % de chlore actif. Les solutions à 1,7 et 8,5 g/l préparées à l'aide de cette poudre ont une teneur respective de 1 et 5 g/l en chlore actif. Ce produit existe également sous forme de comprimés contenant l'équivalent de 1,5 g de chlore actif. On obtient

approximativement la concentration nécessaire de 1 ou 5 g/l en dissolvant 1 ou 4 comprimés dans 1 litre d'eau. En poudre ou en comprimés, le dichloroisocyanurate de sodium est facile à conserver dans de bonnes conditions de sécurité. En présence de sang ou d'autres liquides infectieux accidentellement répandus, on applique le produit sous forme solide et on le laisse agir pendant au moins 10 minutes avant de l'éliminer. On peut ensuite procéder au nettoyage de la zone touchée.

Chloramines

Les chloramines existent sous forme de poudres contenant environ 25 % de chlore actif. Dans la mesure où le chlore est libéré plus lentement qu'avec les hypochlorites, la concentration initiale doit être plus élevée pour que l'efficacité soit comparable à celle des hypochlorites. En revanche, les chloramines en solution sont moins inactivées par les matières organiques que les hypochlorites et elles sont recommandées à la concentration de 20 g/l, que la situation soit « propre » ou « sale ».

Les solutions de chloramines sont pratiquement inodores. Il faut toutefois rincer abondamment les objets qui y ont été plongés pour éliminer tout résidu de l'agent gonflant ajouté aux poudres de chloramine T (tosylchloramide sodique).

Dioxyde de chlore

Le dioxyde de chlore (ClO_2) est un germicide, un désinfectant et un oxydant puissant et rapide qui agit à des concentrations plus faibles que le chlore sous forme d'hypochlorite. Sous forme gazeuse, le dioxyde de chlore est instable et se dissocie exothermiquement en chlore (Cl_2) et en oxygène (O_2). Par contre il se dissout dans l'eau pour donner des solutions aqueuses stables. On peut l'obtenir de deux manières: 1) sur place, par action de l'acide chlorhydrique (HCl) sur le chlorite de sodium ($NaClO_2$); 2) en le commandant sous forme stabilisée que l'on active ensuite sur place selon les besoins.

De tous les oxydants biocides, le dioxyde de chlore est le plus sélectif. L'ozone et le chlore sont beacoup plus réactifs et agissent sur la plupart des composés organiques. Le dioxyde de chlore en revanche, ne réagit que sur les composés soufrés réduits, les amines tertiaires et secondaires ou encore sur certains dérivés organiques réactifs ou fortement réduits. On peut donc obtenir, avec des doses beaucoup plus faibles de dioxyde de chlore, un résidu plus stable qu'avec le chlore ou l'ozone. S'il est convenablement préparé, la sélectivité de ce produit permet de l'utiliser plus efficacement que l'ozone ou le chlore en présence d'une forte teneur en matières organiques.

Formaldéhyde

Le formaldéhyde (HCHO) est un gaz capable de tuer tous les micro-organismes, y compris les spores, aux températures supérieures à 20°C. Par contre, il est inactif contre les prions.

L'action du formaldéhyde est relativement lente et nécessite une humidité relative d'environ 70 %. Il est commercialisé sous forme de polymère solide, le paraformaldéhyde,

présenté en paillettes ou en comprimés, ou encore sous forme de gaz dissous dans l'eau à raison d'environ 370 g/l (37 %) additionné de méthanol à 100 ml/l comme stabilisateur (formol). Par chauffage, ces deux formes libèrent du formaldéhyde que l'on utilise pour décontaminer et désinfecter les espaces clos (locaux ou enceintes de sécurité biologique, par exemple) (voir à ce sujet la section consacrée à la décontamination de l'environnement local dans ce même chapitre). On peut également l'utiliser comme désinfectant liquide (formol à 5 % dans l'eau).

On suspecte le formaldéhyde d'être cancérogène. C'est de toute façon un gaz dangereux, aux propriétés irritantes, doté d'une odeur âcre. Ses vapeurs peuvent irriter les yeux et les muqueuses. Il faut donc l'entreposer et l'utiliser sous une hotte ou dans une zone bien ventilée. Il faut se conformer à la réglementation nationale en matière de sécurité chimique.

Glutaraldéhyde

Comme le formaldéhyde, le glutaraldéhyde ($OHC(CH_2)_3CHO$) est également actif contre les bactéries végétatives, les spores, les champignons ou les virus lipidiques et non lipidiques. Il n'est pas corrosif et agit plus rapidement que le formaldéhyde. Il lui faut toutefois plusieurs heures pour venir à bout des spores bactériennes.

Il est généralement fourni sous forme de solution à environ 20 g/l (2 %) et certains produits doivent être « activés » (alcalinisés) avant usage par addition de bicarbonate livré avec le produit. Une fois activée, la solution peut être réutilisée pendant 1 à 4 semaines, selon le type de préparation et son mode ou sa fréquence d'utilisation. Les bandelettes réactives fournies avec certains produits ne donnent qu'une indication approximative de la concentration en glutaraldéhyde actif présent dans la solution utilisée. La solution doit être jetée si elle se trouble.

Le glutaraldéhyde est toxique et irritant pour la peau et les muqueuses, aussi faut-il éviter tout contact avec ce composé. On doit l'utiliser sous une sorbonne ou dans une zone parfaitement ventilée. Il n'est pas recommandé sous forme de pulvérisations ou de solution pour décontaminer les surfaces d'un local. Dans tous les cas, on se conformera à la réglementation nationale en matière de sécurité chimique.

Dérivés phénoliques

Les dérivés phénoliques constituent un vaste groupe d'agents qui ont compté parmi les premiers germicides utilisés. Toutefois leur sécurité d'emploi ayant été récemment mise en doute, leur emploi s'est restreint. Ils sont actifs contre les bactéries végétatives, les virus lipidiques et, sous une forme appropriée, également contre les mycobactéries. Ils sont sans effet sur les spores et leur activité contre les virus non lipidiques est variable. De nombreux composés phénoliques sont utilisés pour la décontamination des surfaces et certains d'entre eux, comme le triclosan et le chloroxylénol, comptent parmi les antiseptiques les plus courants.

Les produits destinés au lavage des mains contiennent fréquemment du triclosan. Il est surtout actif contre les bactéries végétatives et n'est pas agressif pour la peau et

les muqueuses. Des études en laboratoire ont cependant montré que les bactéries devenues résistantes au triclosan sous faible concentration se montrent également résistantes à l'égard de certains types d'antibiotiques. On ignore si cette observation peut avoir des conséquences sur le terrain.

Un certain nombre de composés phénoliques sont sensibles à la dureté de l'eau et une eau trop dure peut les inactiver, c'est pourquoi il faut les diluer avec de l'eau distillée ou désionisée.

Il n'est pas recommandé d'utiliser des dérivés phénoliques pour traiter des surfaces pouvant se trouver en contact avec des produits alimentaires ni des locaux fréquentés par de jeunes enfants. Ils sont susceptibles d'être absorbés par le caoutchouc et de franchir la barrière cutanée. Dans tous les cas, on se conformera à la réglementation nationale en matière de sécurité chimique.

Composés d'ammonium quaternaire

On utilise toutes sortes de composés d'ammonium quaternaire sous forme de mélanges et souvent aussi en association avec d'autres germicides, comme les alcools par exemple. Ces composés ont une activité satisfaisante contre les bactéries végétatives et les virus lipidiques. Certains d'entre eux (comme le chlorure de benzalkonium) sont utilisés comme antiseptiques.

La présence de matières organiques ou de détergents anionique et aussi la dureté de l'eau réduisent fortement le pouvoir germicide de certains composés d'ammonium quaternaire. Il faut donc choisir avec soin ceux que l'on envisage d'utiliser comme désinfectants pour le nettoyage préalable à la décontamination. Certaines bactéries potentiellement dangereuses peuvent se développer dans les solutions de sels d'ammonium quaternaire. Par ailleurs, ces composés peuvent s'accumuler dans l'environnement du fait de leur faible biodégradabilité.

Alcools

L'éthanol (alcool éthylique, C_2H_5OH) et le propanol-2 (alcool isopropylique, $(CH_3)_2CHOH$) ont des propriétés désinfectantes similaires. Ils sont actifs contre les bactéries végétatives, les champignons et les virus lipidiques mais sans effet sur les spores. Leur activité contre les virus non lipidiques est variable. Pour que l'efficacité soit maximale, la concentration utilisée doit être voisine de 70 % (v/v) dans l'eau : les concentrations supérieures ou inférieures risquent de ne pas avoir un pouvoir germicide aussi élevé. Les solutions aqueuses d'alcools ont le grand avantage de ne pas laisser de résidus sur les objets traités.

Mélangé à d'autres agents, l'alcool est plus efficace que lorsqu'il est seul : c'est le cas par exemple de l'alcool à 70 % contenant 100 g de formaldéhyde par litre ou de l'alcool contenant 2 g par litre de chlore actif. On peut utiliser une solution aqueuse d'alcool à 70 % pour désinfecter la peau, les paillasses et les enceintes de sécurité biologique ou encore pour y faire tremper de petits instruments chirurgicaux. Comme l'éthanol dessèche la peau, il est souvent additionné d'émollients. Les produits pour

friction à base d'alcool sont recommandés pour la décontamination des mains si celles-ci ne sont que légèrement souillées, dans les cas où il est malcommode ou impossible de se les laver correctement. Il ne faut cependant pas perdre de vue que l'éthanol est sans effet sur les spores et peut ne pas détruire tous les types de virus non lipidiques.

Les alcools sont volatils et inflammables aussi ne faut-il pas les utiliser à proximité de flammes nues. Les solutions de travail doivent être entreposées dans des récipients appropriés pour éviter l'évaporation. Les alcools peuvent provoquer un durcissement du caoutchouc et dissoudre certains adhésifs. Il est très important de procéder à un inventaire minutieux et à un entreposage adéquat des réserves d'alcool pour éviter qu'il ne soit utilisé à d'autres fins que la désinfection. Les flacons ou bouteilles contenant des solutions d'alcool doivent être clairement étiquetés pour éviter tout autoclavage intempestif.

Iode et iodophores

L'action de ces désinfectants est comparable à celle du chlore, encore qu'ils puissent être légèrement inhibés par les matières organiques. L'iode peut tacher le tissu et les surfaces environnantes aussi n'est-il généralement pas utilisable comme désinfectant. Par contre, l'iode et les iodophores sont de bons antiseptiques. La polyvidone iodée est un antiseptique sûr et efficace pour le lavage chirurgical des mains et pour l'antisepsie de la peau du champ opératoire. Les antiseptiques à base d'iode ne conviennent généralement pas pour la désinfection du matériel médical ou dentaire. L'iode ne doit pas être utilisé sur l'aluminium ou le cuivre.

L'iode peut être toxique. Les composés organiques iodés doivent être conservés à 4–10 °C pour éviter que des bactéries potentiellement dangereuses ne s'y développent.

Peroxyde d'hydrogène et peracides

Comme le chlore, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée, H_2O_2) et les peracides sont des oxydants énergiques et peuvent constituer de puissants germicides à large spectre. Ils sont également moins nocifs que le chlore pour l'organisme humain et pour l'environnement.

Le peroxyde d'hydrogène est fourni soit la sous forme d'une solution à 3 % prête à l'emploi, soit en solution aqueuse à 30 % que l'on dilue dans 5 à 10 fois son volume d'eau stérilisée. En fait, ces solutions à 3–6 % de peroxyde d'hydrogène ont une action relativement lente et leur pouvoir germicide est limité. Il existe maintenant des solutions contenant d'autres substances destinées à stabiliser la teneur en peroxyde d'hydrogène. Ces produits ont une action germicide plus rapide et sont moins corrosifs.

On peut utiliser le peroxyde d'hydrogène pour décontaminer les paillasses et les enceintes de sécurité biologique, et les solutions les plus concentrées peuvent convenir pour la désinfection du matériel médical ou dentaire qui ne supporte pas la chaleur. La vaporisation de peroxyde d'hydrogène ou d'acide peracétique (CH_3COOOH) pour

décontaminer le matériel médical ou chirurgical non résistant à la chaleur exige un appareillage spécial.

Le peroxyde d'hydrogène et les peracides peuvent corroder les métaux comme l'aluminium, le cuivre, le laiton et le zinc et ils sont également capables de décolorer les tissus, le système pileux, la peau et les membranes. Tout objet traité avec ces produits doit être rincé à fond avant d'être mis en contact avec les yeux ou les muqueuses. Le stockage doit toujours se faire à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Décontamination de l'environnement local

La décontamination des locaux du laboratoire, de son mobilier et de son équipement nécessite l'emploi d'une association de désinfectants liquides et gazeux. Les surfaces peuvent être décontaminées au moyen d'une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) ; une solution contenant 1 g de chlore actif par litre peut convenir pour l'assainissement général des locaux, mais des solutions plus concentrées sont recommandées en cas de situation à haut risque. Pour la décontamination des locaux du laboratoire, les solutions prêtes à l'emploi contenant 3 % de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) peuvent parfaitement remplacer les solutions d'hypochlorite.

On peut également décontaminer les salles et l'équipement par fumigation au formaldéhyde produit en chauffant du paraformaldéhyde ou en faisant bouillir du formol. Ce procédé est extrémement dangereux et doit être mis en œuvre par du personnel qualifié. Toutes les ouvertures de la pièce (fenêtres, portes, etc.) doivent être hermétiquement fermées avec du ruban adhésif par exemple, avant le dégagement du gaz. La fumigation doit être effectuée à une température ambiante d'au moins 21 °C et une humidité relative de 70 % (voir plus loin dans ce chapitre la section consacrée à la décontamination des enceintes de sécurité biologique).

Une fois l'opération achevée, il faut ventiler abondamment les locaux avant d'autoriser l'entrée du personnel. Le personnel obligé de pénétrer dans la salle avant l'aération doit porter un masque respiratoire approprié. On peut utiliser du bicarbonate d'ammonium gazeux pour neutraliser le formaldéhyde.

La fumigation de petits volumes avec du peroxyde d'hydrogène en phase gazeuse est également efficace mais il faut un appareillage spécial pour la production du gaz.

Décontamination des enceintes de sécurité biologique

Pour décontaminer les enceintes de sécurité biologique de classes I et II, il existe un appareillage qui permet de produire, de faire circuler et de neutraliser indépendamment le formaldéhyde. On peut aussi mettre la quantité désirée de paraformaldéhyde (pour une concentration finale de 0,8 % de formaldéhyde dans l'air) dans une poêle à frire que l'on place ensuite sur une plaque chauffante électrique. On introduit également dans l'enceinte une autre poêle contenant une quantité de bicarbonate d'ammonium de 10 % supérieure à celle de paraformaldéhyde et on la place sur une autre plaque chauffante. Les prises d'alimentation des plaques chauffantes doivent se trouver hors de l'enceinte, de manière à pouvoir régler les plaques depuis l'extérieur

en les branchant ou en les débranchant selon le cas. Si l'humidité relative est inférieure à 70 %, il faut également placer dans l'enceinte un récipient ouvert contenant de l'eau chaude avant de fermer hermétiquement le panneau frontal avec du ruban épais (par exemple du ruban adhésif entoilé). Une épaisse feuille de plastique est ensuite scotchée contre l'ouverture frontale et la sortie de la gaine d'évacuation de façon que le gaz ne pénètre pas dans la pièce. Les traversées des fils d'alimentation qui passent à travers le panneau frontal doivent également être étanchéifiées avec du ruban adhésif entoilé.

On branche la plaque électrique qui chauffe le paraformaldéhyde. Une fois que celui-ci s'est entièrement vaporisé, on la débranche. On ne touche plus alors à l'enceinte pendant au moins 6 h. Passé ce temps, on branche la deuxième plaque chauffante et on laisse se vaporiser tout le bicarbonate d'ammonium. On débranche ensuite la plaque et on met en marche le ventilateur de l'enceinte pendant deux intervalles de 2 secondes environ chacun pour faire circuler la vapeur de bicarbonate d'ammonium. L'enceinte est laissée telle quelle pendant 30 minutes avant d'ouvrir le panneau frontal (ou d'enlever la feuille de plastique) et de dégager la sortie de la gaine d'évacuation. Avant de se servir de l'enceinte, il faut l'essuyer pour en éliminer les résidus.

Lavage et décontamination des mains

Dans la mesure du possible, il faut porter des gants chaque fois que l'on manipule du matériel présentant un risque biologique. Toutefois, cette mesure ne remet pas en cause la nécessité, pour le personnel de laboratoire, de se laver régulièrement et convenablement les mains. Le lavage des mains est indispensable lorsque l'on a manipulé des animaux ou du matériel présentant un risque biologique ou encore avant de quitter le laboratoire.

Dans la plupart des cas, un lavage soigneux des mains à l'eau et au savon est suffisant pour les décontaminer, mais l'usage de savons germicides est recommandé dans les situations à haut risque. Il faut bien se savonner les mains en frottant soigneusement pendant au moins une dizaine de secondes, puis les rincer à l'eau claire et les sécher avec du papier ou une serviette propre (on peut éventuellement utiliser un séchoir à air chaud).

Il est recommandé de disposer de robinets commandés avec le pied ou le coude. Dans le cas contraire, on fermera le robinet en le saisissant avec une serviette en papier ou en tissu afin de ne pas se recontaminer les mains.

Comme indiqué plus haut, les produits pour friction à base d'alcool peuvent être utilisés pour se nettoyer les mains si celles-ci ne sont que légèrement souillées et que l'on ne peut pas se les laver convenablement.

Désinfection et stérilisation par la chaleur

La chaleur est l'agent physique le plus couramment utilisé pour éliminer les germes pathogènes. La chaleur « sèche », qui n'est absolument pas corrosive, est utilisée pour traiter de nombreux instruments et accessoires de laboratoire qui sont capables de supporter une température de 160 °C ou davantage pendant 2 à 4 h. Le brûlage et

l'incinération (voir ci-dessous) sont également des formes de traitement par la chaleur sèche. L'autoclavage est la manière la plus efficace d'utiliser la chaleur « humide ».

L'ébullition ne tue pas nécessairement tous les micro-organismes et les germes pathogènes, mais on peut y recourir comme traitement stérilisateur minimum lorsque d'autres méthodes (désinfection ou décontamination chimique, autoclavage) ne sont ni utilisables ni disponibles.

Les objets stérilisés doivent être manipulés et rangés de manière à rester stériles jusqu'au moment de leur utilisation.

Autoclavage

Le traitement par la vapeur saturante sous pression (autoclavage) constitue le moyen le plus efficace et le plus fiable pour stériliser le matériel de laboratoire. Dans la plupart des cas, les cycles suivants assurent la stérilisation si l'autoclave a été correctement chargé :

1. Temps de palier de 3 min à 134 °C.
2. Temps de palier de 10 min à 136 °C.
3. Temps de palier de 15 min à 121 °C.
4. Temps de palier de 25 minutes à 115 °C.

Parmi les divers types d'autoclaves, on peut citer les suivants :

Autoclaves à vapeur directe. Le schéma d'un de ces autoclaves est représenté à la figure 10. La vapeur pénètre dans la chambre sous pression et déplace l'air plus lourd vers le bas; celui-ci passe ensuite dans la vanne d'évacuation de la chambre, à travers un filtre HEPA.

Autoclaves à extraction d'air. Dans ces appareils, l'air est extrait de la chambre avant admission de la vapeur. L'air est évacué par une vanne munie d'un filtre HEPA. A la fin du cycle, la vapeur est automatiquement vidangée. Ces autoclaves peuvent fonctionner à 134 °C et le cycle de stérilisation peut donc être réduit à 3 minutes. Ils constituent le système idéal pour les charges poreuses, mais en raison du vide qui est fait dans la chambre, ils ne peuvent pas être utilisés pour traiter des liquides.

Autoclaves de type autocuiseur à source de chauffage extérieure. Ces autoclaves ne seront utilisés que si l'on ne dispose pas d'un autoclave à vapeur directe. Ils sont chargés par le haut et chauffés au gaz, à l'électricité ou d'une autre manière. La vapeur est produite en chauffant l'eau placée au fond du récipient et l'air se déplace vers le haut avant de sortir par la soupape d'échappement. Lorsque l'air a été évacué en totalité, on ferme la soupape d'échappement et on baisse le chauffage. La pression et la température augmentent jusqu'à une valeur donnée à laquelle la soupape de sécurité commence à fonctionner. Le temps de palier se compte à partir de ce moment. A la fin du cycle, on coupe le chauffage et on laisse la température descendre à 80 °C ou moins avant d'ouvrir le couvercle.

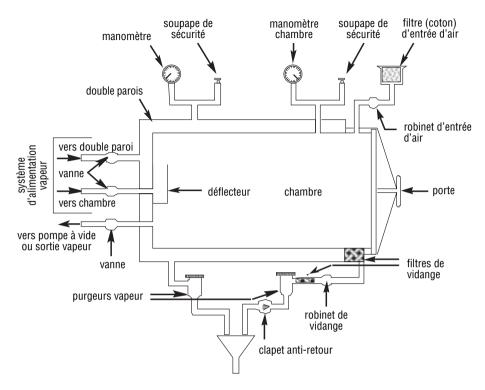



Figure 10. ***Autoclave à vapeur directe.***

Chargement des autoclaves

Le matériel ne doit pas être entassé à l'intérieur de la chambre pour que la vapeur puisse pénétrer sans difficulté et que l'air puisse être éliminé facilement. Il faut que la vapeur puisse atteindre le contenu des sacs.

Précautions d'utilisation

L'observation des règles suivantes permet de réduire les risques que comporte l'utilisation d'appareils sous pression.

1. L'utilisation et l'entretien habituels des appareils doivent être confiés à des personnes qualifiées.
2. Un programme de maintenance préventive, comprenant un contrôle périodique des joints de la chambre et de la porte ainsi que de tous les manomètres et dispositifs de commande doit être mis sur pied et confié à un personnel qualifié.
3. La vapeur doit être saturée et exempte de substances chimiques (par ex. des inhibiteurs de corrosion) qui pourraient contaminer le matériel à stériliser.
4. Tout le matériel à autoclaver doit être placé dans des récipients qui permettent une évacuation facile de l'air et une bonne pénétration de la chaleur. La chambre

ne doit pas être encombrée afin que la charge puisse baigner de manière uniforme dans la vapeur.

5. Si l'autoclave n'est pas muni d'un dispositif de sécurité qui empêche l'ouverture de la porte tant que la chambre est sous pression, il est indispensable que la soupape principale soit fermée et qu'on laisse retomber la température de la chambre en dessous de 80 °C avant d'ouvrir la porte.
6. Si on autoclave des liquides, il faut utiliser un système d'évacuation à faible vitesse pour éviter qu'en raison de la surchauffe, ceux-ci se mettent à bouillir lorsqu'on les retire.
7. Les opérateurs doivent porter des gants et un écran facial pour se protéger lors de l'ouverture de l'autoclave, même si la température est retombée à moins de 80 °C.
8. Pour tout contrôle de routine du fonctionnement de l'autoclave, il faut placer un indicateur biologique ou un thermocouple au centre de chaque charge. Il est vivement conseillé de contrôler régulièrement la température au moyen de thermocouples et d'appareils enregistreurs en utilisant « la pire charge possible », ce qui permettra de déterminer ce que doit être le déroulement du cycle.
9. Le filtre de vidange placé en bas de la chambre (s'il y en a un) doit être retiré et nettoyé tous les jours.
10. On veillera à ce que la soupape d'échappement des autoclaves de type autocuiseur ne soit pas obturée par du papier, etc. présent dans la charge.

Incinération

L'incinération est une méthode utile pour se débarrasser des carcasses d'animaux, des pièces anatomiques ou autres déchets de laboratoire, avec ou sans décontamination préalable (voir chapitre 3). L'incinération des matériels infectieux ne peut se substituer à l'autoclavage que si l'incinérateur est placé sous la responsabilité du laboratoire.

Pour donner satisfaction, il faut que l'incinérateur comporte un dispositif efficace de régulation de la température et une chambre de combustion secondaire. Un grand nombre d'incinérateurs, notamment ceux qui ne comportent qu'une seule chambre de combustion, ne permettent pas de traiter de manière satisfaisante le matériel infectieux, les carcasses d'animaux et les matières plastiques. En effet la destruction risque de ne pas être totale et l'effluent qui sort par la cheminée peut polluer l'atmosphère du fait de la présence de micro-organismes ou de substances et fumées toxiques. Cela étant, il existe, pour les chambres de combustion, de nombreux types de configuration qui donnent satisfaction, mais l'idéal est d'obtenir une température d'au moins 800 °C dans la chambre primaire et d'au moins 1000 °C dans la chambre secondaire.

Les matières et objets à incinérer, même s'ils ont été préalablement décontaminés, doivent être transportés dans des sacs, de préférence des sacs plastiques. Le personnel préposé à l'incinération doit avoir reçu des instructions appropriées concernant le chargement et le réglage de la température de l'incinérateur. A noter que le bon fonctionnement d'un incinérateur dépend très largement d'un panachage judicieux des matières et objets traités.

Ces incinérateurs, existants ou en projet, continuent à susciter des inquiétudes quant aux effets négatifs qu'ils pourraient avoir sur l'environnement et les études se poursuivent pour mettre au point des appareils plus respectueux de l'environnement et consommant moins d'énergie.

Elimination

L'élimination des déchets de laboratoire ou des déchets médicaux est soumise à diverses dispositions réglementaires régionales, nationales ou internationales et les versions les plus récentes de ces documents doivent être consultées avant d'élaborer et de mettre en œuvre un programme portant sur la manipulation, le transport et l'élimination des déchets qui présentent un risque biologique. En régle générale, les cendres extraites des incinérateurs peuvent être traitées comme des cendres domestiques et prises en charge par les services locaux d'enlèvement des ordures. Les déchets autoclavés peuvent être éliminés par incinération sur un site hors de la zone du laboratoire ou enfouis dans une décharge autorisée (voir le chapitre 3).

Pour de plus amples informations, le lecteur peut consulter les références *13* et *29* à *39*.

15. Introduction au transport des matières infectieuses

Le transport des matières infectieuses ou potentiellement infectieuses est soumis à une réglementation nationale et internationale rigoureuse. Cette réglementation précise comment utiliser les matériaux d'emballage selon les formes prescrites et énumère également les autres dispositions à respecter pour les expéditions.

Le personnel du laboratoire doit expédier les matières infectieuses en respectant la réglementation applicable à leur transport. L'observation de ces règles permet :

1. De réduire le risque de détérioration ou de fuite des colis et par voie de conséquence,
2. de réduire l'exposition à une éventuelle infection et
3. d'améliorer les conditions de livraison des colis.

Réglementation internationale relative aux transports

La réglementation relative aux transports de matières infectieuses (quel qu'en soit le moyen) repose sur le *Réglement type des Nations Unies pour le transport des matières dangereuses* (*40*). Ces recommandations émanent du Comité d'experts de l'ONU en matière de transport des marchandises dangereuses (UNCEDTG). Pour avoir force de loi, les dispositions du Réglement type des Nations Unies doivent être incorporées dans la réglementation nationale et internationale par les autorités compétentes (par ex. les *Instructions techniques pour la sécurité du transport aérien des marchandises dangereuses* de l'Organisation de l'Aviation civile internationale (OACI) ou *l'Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route* (ADR) (*42*)).

L'Association du Transport aérien international (IATA) publie chaque année des directives concernant le transport des matières infectieuses (*43*) auxquelles les compagnies aériennes qui en sont membres doivent se conformer.

Comme le *Réglement type des Nations Unies pour le transport des matières dangereuses* est un ensemble de recommandations qui est revu tous les deux ans, le lecteur est prié de se reporter aux tout derniers textes réglementaires nationaux et internationaux en la matière.

L'OMS intervient à titre consultatif auprès du Comité d'experts des Nations Unies en matière de transport des marchandises dangereuses. Un certain nombre de modifications importantes concernant la réglementation relative au transport des matières

infectieuses figurent dans la 13e édition (2003) du *Réglement type* des Nations Unies (*40*). Des indications sur les tenants et aboutissants de ces modifications peuvent être obtenues auprès de l'OMS (*44*).

La réglementation internationale relative aux modes de transport n'est pas destinée à se substituer aux prescriptions locales ou nationales en la matière. Toutefois, en l'absence de telles prescriptions, c'est à la réglementation internationale qu'il convient de se conformer.

Il importe de noter que le transport international des matières infectieuses est également soumis à la réglementation nationale relative à l'import-export.

Le système du triple emballage

La figure 11 donne un exemple de triple emballage, qui constitue le meilleur système pour le transport des matières infectieuses ou potentiellement infectieuses. Cet emballage comporte trois couches successives : un récipient primaire, un emballage secondaire et un emballage extérieur.

Le récipient primaire, qui contient l'échantillon, doit être hermétique, parfaitement étanche, et son contenu doit être indiqué sur une étiquette. Ce premier récipient est enveloppé dans un volume suffisant de matériau absorbant pour qu'en cas de bris ou de fuite, tout le liquide de l'échantillon soit absorbé.

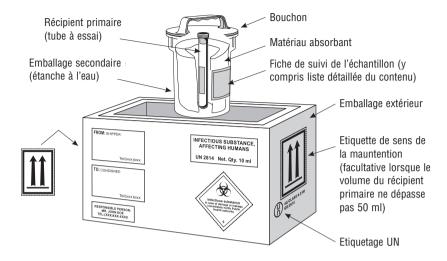
Le récipient primaire est placé dans un deuxième emballage, également hermétique et étanche, qui sert de protection. Plusieurs récipients primaires enveloppés de matériau absorbant peuvent être placés dans un même emballage secondaire. Certains textes réglementaires indiquent la limite de poids ou de volume autorisée pour les colis de matières infectieuses.

La troisième couche, qui constitue l'emballage extérieur, protège d'emballage secondaire contre les dommages matériels qui pourraient se produire en cours de transport. Il faut également produire des formulaires contenant des données sur l'échantillon, des documents ou autres types d'information qui en indiquent la nature, en donnent la description, avec mention du nom de l'expéditeur et du destinataire, ainsi que tout document complémentaire, conformément aux derniers textes réglementaires en vigueur.

Le *Réglement type* des Nations Unies préconise l'utilisation de deux modèles différents de triple emballage. Le modèle de base convient pour le transport de diverses matières infectieuses, mais les prescriptions concernant le transport des micro-organismes à haut risque sont plus rigoureuses. Pour plus de détails sur l'utilisation des différents types d'emballage en fonction de la nature des matières transportées, il est conseillé de se reporter aux textes réglementaires nationaux ou internationaux relatifs aux différents modes de transport.

Consignes pour nettoyer des produits répandus

Au cas où du matériel biologique infectieux ou potentiellement infectieux viendrait à être répandu, on appliquera les consignes suivantes :

Emballage et étiquetage des substances infectieuses de catégorie A

Emballage et étiquetage des substances infectieuses de catégorie B

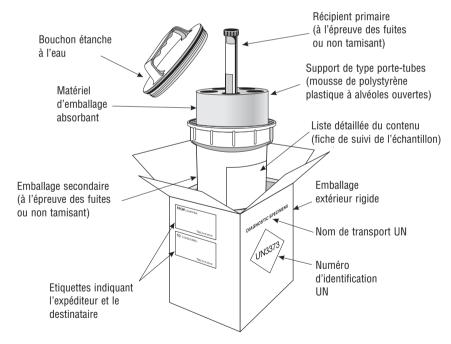



Figure 11. ***Exemples d'emballages triples.***
(figures aimablement communiquées par l'IATA, Montréal, Canada).

1. Porter des gants et des vêtements protecteurs, y compris une protection oculaire et faciale, si nécessaire.
2. Recouvrir le liquide avec des serviettes en tissu ou en papier pour éviter qu'il ne continue à se répandre.
3. Verser un désinfectant approprié sur les serviettes et la zone environnante (en général une solution d'hypochlorite à 5 % fait l'affaire; toutefois si l'accident survient à bord d'un aéronef, il faut utiliser un composé d'ammonium quaternaire).
4. Appliquer le désinfectant par zones concentriques en commençant par les bords du secteur contaminé et en se dirigeant vers le centre.
5. Au bout d'une durée appropriée (par ex. 30 min), éliminer les produits. En présence de débris de verre ou autres objets pointus ou tranchants, se servir d'une pelle ou d'un morceau de carton rigide pour les rassembler et les placer dans un récipient imperforable en vue de leur élimination.
6. Nettoyer et désinfecter l'emplacement où le liquide a été répandu (si nécessaire, répéter les opérations 2 à 5).
7. Jeter les matériaux et produits contaminés dans une poubelle étanche et imperforable.
8. Une fois la désinfection achevée, informer les autorités compétentes que le site est décontaminé.

PARTIE V

Introduction aux biotechnologies

16. Sécurité et technologies de recombinaison de l'ADN

Les technologies de recombinaison de l'ADN – également connues sous la dénomination de génie génétique – consistent à associer du matériel génétique de diverses origines pour créer des organismes génétiquement modifiés (OGM) qui n'ont probablement jamais existé dans la nature. Au début, les spécialistes de la biologie moléculaire craignaient que ces organismes ne soient dotés de propriétés imprévisibles et indésirables susceptibles de les rendre dangereux s'ils venaient à s'échapper des laboratoires. Ces inquiétudes ont constitué le thème central des débats qui se sont déroulés lors de la conférence scientifique tenue en 1975 à Asilomar, en Californie Erats Unrs d'Amerque (*45*). Les discussions qui ont eu lieu lors de cette réunion au sujet des problèmes de sécurité biologique ont abouti à l'énoncé des premiers principes directeurs concernant les technologies de recombinaison de l'ADN. L'expérience acquise après 25 ans de recherches montre que les travaux de génie génétique peuvent être effectués dans de bonnes conditions de sécurité pour peu que l'on évalue correctement le risque et que des mesures suffisantes de sécurité soient prises.

Les premiers travaux de génie génétique avaient pour but de cloner des fragments d'ADN dans des hôtes bactériens afin d'obtenir la surexpression de certains produits géniques en vue d'études ultérieures. Des molécules d'ADN recombinant sont également utilisées pour créer divers types d'OGM, comme les animaux ou plantes transgéniques ou les animaux « *knock out* » c'est à dire dont certains gènes sont inactivés ou supprimés.

Les technologies de recombinaison de l'ADN ont d'ores et déjà des retombées considérables en biologie et en médecine et leur influence va probablement encore s'accentuer maintenant que l'on connaît la séquence nucléotidique complète du génome humain. Des dizaines de milliers de gènes dont on ignore encore la fonction vont ainsi pouvoir être étudiés grâce au génie génétique. La thérapie génique pourrait être couramment utilisées pour traiter certaines maladies et il est probable que les techniques de génie génétique vont nous permettre de disposer de nouveaux vecteurs de clonage. Les plantes transgéniques créées par recombinaison de l'ADN pourraient également prendre une place de plus en plus importante dans l'agriculture moderne.

On ne doit procéder à une expérience comportant l'élaboration ou l'utilisation d'OGM qu'après une évaluation ou une analyse du risque biologique qu'elle comporte. Il est possible que la pathogénicité et les dangers que peuvent comporter ces organismes présentent des caractéristiques nouvelles et plus ou moins bien définies.

Il faut donc étudier les propriétés de l'organisme donneur et celles de l'organisme receveur, la nature des séquences d'ADN qui seront transférées et les caractéristiques de l'environnement. La connaissance de tous ces facteurs devrait permettre de déterminer plus facilement le niveau de sécurité biologique nécessaire pour la manipulation sans danger de l'OGM obtenu et les systèmes de confinement biologique et physique à mettre en œuvre.

Considérations biosécuritaires applicables aux systèmes d'expression biologiques

Les systèmes d'expression biologiques sont constitués par les vecteurs de clonage et les cellules hôtes. Pour que ces systèmes soient efficaces et puissent être utilisés sans danger, ils doivent répondre à un certain nombre de critères. Prenons à titre d'exemple un de ces systèmes, le plasmide pUC18. Souvent utilisé comme vecteur de clonage avec des bactéries *Escherichia coli* K12, ce plasmide a été entièrement séquencé. Tous les gènes nécessaires à son expression dans d'autres bactéries ont été supprimés de son plasmide précurseur, le pBR322. *E.coli* K12 est une souche non pathogène de colibacilles qui est incapable de coloniser de façon permanente l'intestin des êtres humains ou des animaux en bonne santé. Les techniques habituelles de génie génétique peuvent être utilisées sans risque sur le système *E.coli*/pUC18 au niveau 1 de sécurité biologique, aussi longtemps que les produits exprimés par l'ADN étranger inséré dans la bactérie ne nécessitent pas le passage à un niveau supérieur.

Considérations biosécuritaires applicables aux vecteurs d'expression

Un niveau supérieur de sécurité biologique peut être nécessaire lorsque :

1. L'expression des séquences d'ADN provenant de germes pathogènes sont susceptibles d'augmenter la virulence de l'OGM.
2. Les séquences insérées ne sont pas parfaitement caractérisées, comme c'est par exemple le cas lors de la préparation de bibliothèques d'ADN génomique provenant de micro-organismes pathogènes.
3. Les produits géniques peuvent avoir une activité pharmacologique.
4. Les produits géniques codent pour des toxines.

Vecteurs viraux pour le transfert de gènes

On utilise certains virus, des adénovirus par exemple, pour transférer des gènes dans d'autres cellules. Ces vecteurs sont dépourvus des gènes qui commandent la réplication et on les cultive dans des lignées cellulaires capables de compenser ce défaut.

Il peut arriver que ces vecteurs soient contaminés par des virus capables de se répliquer, virus qui apparaissent dans la lignée cellulaire à la faveur de rares recombinaisons spontanées ou peuvent aussi être présents en raison d'une purification insuffisante. Ces vecteurs doivent être manipulés au même niveau de sécurité biologique que les adénovirus dont ils dérivent.

Animaux transgéniques et animaux « knock out »

Les animaux porteurs de gènes étrangers (animaux transgéniques) doivent être manipulés à un niveau de confinement correspondant aux caractéristiques des produits de ces gènes. Les animaux chez lesquels on a procédé à la délétion de certains gènes particuliers (animaux « *knock out* ») ne présentent généralement pas de danger sur le plan biologique.

Parmi ces animaux transgéniques figurent ceux qui expriment les récepteurs de virus normalement incapables d'infecter l'espèce en question. S'il arrivait que de tels animaux s'échappent d'un laboratoire et transmettent leurs gènes étrangers à leurs congénères sauvages, il pourrait théoriquement se constituer au sein de la population animale un réservoir pour ces virus.

Cette possibilité a été évoquée dans le cas du virus poliomyélitique et elle prend toute son importance dans le contexte de l'éradication de la poliomyélite. Des souris transgéniques exprimant le récepteur au virus poliomyélitique humain et produites par différents laboratoires ont pu être infectées par ce virus en utilisant diverses voies d'inoculation et la maladie résultante s'est révélée cliniquement et histopathologiquement analogue à la poliomyélite humaine. Toutefois, le modèle murin diffère de l'organisme humain en ce sens que le virus poliomyélitique administré par voie orale se réplique mal ou pas du tout dans les voies digestives. Il est donc très peu probable que, dans l'éventualité où ces souris transgéniques s'échapperaient pour retourner à l'état sauvage, elles soient en mesure de constituer un nouveau réservoir animal du virus poliomyélitique. Cet exemple montre néanmoins que, pour chaque nouvelle lignée d'animaux transgéniques, il faut procéder à des études minutieuses pour déterminer par quelles voies ces animaux peuvent être infectés, quel est le volume d'inoculum nécessaire à l'infection et dans quelle proportion les animaux infectés excrètent le virus. En outre, il faut prendre toutes les mesures nécessaires pour assurer un confinement rigoureux des souris transgéniques porteuses du récepteur viral.

Plantes transgéniques

Dans de nombreuses régions du monde, les plantes trangéniques exprimant des gènes qui leur confèrent une tolérance aux herbicides ou une résistance aux insectes sont aujourd'hui au centre d'une vive controverse. Le débat porte essentiellement sur la sécurité sanitaire de ces plantes en tant qu'aliments et sur les conséquences écologiques que leur culture pourrait avoir à long terme.

On utilise des plantes transgéniques exprimant des gènes d'origine humaine ou animale pour obtenir des produits d'intérêt médical ou nutritionnel. Il convient de procéder à une évaluation du risque pour déterminer à quel niveau de sécurité biologique ces plantes doivent être produites.

Evaluation du risque dans le cas des organismes génétiquement modifiés

Dans le cas de travaux sur des OGM, l'évaluation du risque doit prendre en compte les caractéristiques des organismes donneurs et receveurs. On en trouvera ci-après quelques exemples.

Dangers directement liés au gène inséré (organisme donneur)

Une évaluation du risque est nécessaire dans le cas où le produit du gène inséré possède une activité biologique ou pharmacologique reconnue qui pourrait se révéler nocive, par exemple, si on a affaire à des :

1. Toxines
2. Cytokines
3. Hormones
4. Régulateurs de l'expression génique
5. Facteurs de virulence ou d'accroissement de la virulence
6. Séquences oncogènes
7. Facteurs d'antibiorésistance
8. Allergènes.

Dans chaque cas, il faut évaluer le niveau d'expression nécessaire pour qu'une activité biologique ou pharmacologique se manifeste.

Dangers liés au receveur ou à l'hôte

1. Sensibilité de l'hôte
2. Pathogénicité de la souche hôte, et notamment sa virulence, son infectiosité et sa production de toxines
3. Modification de la gamme d'hôtes
4. Etat immunitaire du receveur
5. Conséquences d'une exposition.

Dangers liés à la modification de certains facteurs de pathogénicité

Il y a beaucoup de modifications qui n'impliquent pas de gènes dont les produits sont intrinsèquement nocifs, mais des effets indésirables peuvent se produire par suite de la modification des facteurs pathogènes ou non pathogènes existants. La modification d'un gène normal peut avoir des répercussions sur la pathogénicité. Pour reconnaître ces dangers potentiels, il faut se poser les questions suivantes (liste non exhaustive).

1. Y a t-il augmentation de l'infectiosité ou de la pathogénicité ?
2. L'insertion du gène étranger peut-elle compenser une mutation incapacitante chez le receveur ?
3. Le gène étranger code-t-il pour un facteur de pathogénicité appartenant à un autre organisme ?
4. Si l'ADN étranger contient un tel facteur de pathogénicité, peut-on envisager que cela ait des conséquences pour la pathogénicité de l'OGM ?
5. Existe t-il un traitement ?
6. La modification génétique aura t-elle des conséquences pour la sensibilité de l'OGM aux antibiotiques ou à d'autres types de thérapeutique ?
7. L'éradication de l'OGM est-elle possible ?

Autres considérations

L'utilisation d'animaux ou de végétaux entiers à des fins expérimentales demande également mûre réflexion. Les chercheurs doivent respecter la réglementation, les restrictions et les prescriptions relatives au travail sur les OGM en vigueur dans les pays ou les institutions dans lesquels ils exercent leur activité.

Il peut exister dans certains pays une autorité nationale chargée d'établir des directives concernant le travail sur les OGM et celle-ci peut aider les scientifiques à déterminer quel est le niveau de sécurité biologique requis par leurs travaux. Ce niveau peut parfois varier d'un pays à l'autre et il peut aussi arriver qu'un pays décide d'abaisser ou d'élever le niveau de sécurité exigé pour tel ou tel système vecteur/hôte, à la lumière de données nouvelles.

L'évaluation du risque est un processus dynamique qui évolue avec les nouvelles avancées et les nouveaux progrès de la science. Si ces évaluations sont menées correctement, elles permettront à l'humanité de continuer à tirer profit du génie génétique dans les années à venir.

Pour de plus amples informations, le lecteur est prié de consulter les références *17* et *46* à *48*.

PARTIE VI

Sécurité chimique, électrique et incendie

17. Les risques chimiques

Le personnel des laboratoires de microbiologie est exposé à des produits chimiques dangereux tout autant qu'à des germes pathogènes. Il est donc primordial qu'il ait une bonne connaissance des effets toxiques de ces produits, de leurs voies d'exposition et des risques que comportent leur manipulation et leur stockage (voir annexe 5). On peut obtenir auprès des fabricants ou des fournisseurs des fiches de sécurité chimique ou d' autres types d'information sur les risques de nature chimique. Le personnel des laboratoires où de tels produits sont employés doit avoir accès à cette documentation sous une forme ou une autre, qui peut par exemple être incluse dans le manuel de laboratoire ou le guide d'hygiène et de sécurité.

Voies d'exposition

On peut être exposé à des produits chimiques dangereux par :

1. Inhalation
2. Contact
3. Ingestion
4. Piqûre d'aiguille
5. Lésion cutanée.

Stockage des produits chimiques

Il ne faut conserver au laboratoire que la quantité de produits nécessaire pour l'usage quotidien. Les stocks doivent être entreposés dans une réserve constituée d'une pièce ou d'un bâtiment spécialement destinés à cet effet.

Les produits chimiques ne doivent pas être rangés par ordre alphabétique.

Règles générales d'incompatibilité chimique

Pour prévenir tout risque d'incendie ou d'explosion, les produits qui figurent dans la colonne de gauche du tableau 13 doivent être entreposés et manipulés de façon à éviter tout contact avec avec les substances placées en regard, dans la colonne de droite.

Toxicité des produits chimiques

Certains produits chimiques peuvent avoir des effets indésirables sur la santé des personnes qui les manipulent ou en inhalent les vapeurs. Outre les poisons notoires, un certain nombre de produits chimiques sont connus pour leurs divers effets toxiques.

Tableau 13. ***Règles générales d'incompatibilité chimique***

TYPE DE SUBSTANCE	SUBSTANCES INCOMPATIBLES
Métaux alcalins, comme le sodium, le potassium, le césium ou le lithium	Dioxyde de carbone, hydrocarbures chlorés, eau
Halogènes	Ammoniac, acétylène, hydrocarbures
Acide acétique, sulfure d'hydrogène, aniline, hydrocarbures, acide sulfurique	Oxydants, comme l'acide chromique, l'acide nitrique, les peroxydes ou les permanganates

Le système respiratoire, le sang, les poumons, le foie, les reins et le tube digestif, ainsi que d'autres organes et tissus, peuvent être touchés et même subir de graves lésions. Parmi toutes ces substances toxiques, certaines sont reconnues comme étant tératogènes ou cancérogènes.

Les vapeurs de certains solvants sont toxiques lorsqu'elles sont inhalées. Outre les effets plus graves indiqués ci-dessus, l'exposition peut entraîner une atteinte sans retentissement visible immédiat sur la santé, mais qui peut se traduire par un défaut de coordination, une somnolence et des symptômes du même ordre, qui augmentent le risque d'accident.

Une exposition répétée ou prolongée à la phase liquide d'un grand nombre de solvants organiques peut être à l'origine de lésions cutanées résultant de la dissolution des graisses par les solvants ou bien encore d'une action corrosive ou allergique.

Des informations détaillées sur les effets toxiques des produits chimiques sont données à l'annexe 5.

Produits chimiques explosifs

Les azotures, qui entrent souvent dans la composition des solutions antibactériennes, ne doivent en aucun cas entrer en contact avec le cuivre ou le plomb (canalisation d'évacuation et plomberie), car les azotures de ces métaux explosent violemment au moindre choc.

Les éthers conservés depuis longtemps et qui ont cristallisé sont extrêmement instables et peuvent exploser.

L'acide perchlorique, qui sèche sur des surfaces de bois, sur des matériaux de construction ou du tissu explose et s'enflamme sous l'effet d'un choc.

L'acide picrique et les picrates détonnent sous l'effet de la chaleur et des chocs.

Renversement accidentel de produits chimiques

La plupart des fabricants de produits chimiques pour laboratoires fournissent des affiches indiquant la conduite à tenir en cas de renversement de divers produits. Ces affiches ainsi que le matériel et les produits à utiliser en pareil cas se trouvent également dans le commerce. Elles devront être apposées bien en vue dans le laboratoire. Le matériel suivant doit également être fourni :

1. Nécessaires pour traiter les produits répandus
2. Vêtements protecteurs, tels que gants en caoutchouc épais, surchaussures ou bottes en caoutchouc, masques respiratoires
3. Pelles et écopes
4. Pinces pour saisir les morceaux de verre
5. Serpillières, linges et serviettes en papier
6. Seaux
7. Carbonate de sodium (Na_2CO_3) ou monohydrogénocarbonate de sodium (bicarbonate, $NaHCO_3$) pour neutraliser les acides et les produits corrosifs
8. Sable (pour recouvrir les bases répandues)
9. Détergent non inflammable.

En cas de renversement important d'un produit chimique, procéder de la manière suivante :

1. Prévenir le délégué à la sécurité compétent.
2. Faire évacuer le personnel qui n'est pas indispensable.
3. Donner des soins aux personnes qui ont pu être contaminées.
4. Si le produit répandu est inflammable, éteindre toutes les flammes nues, fermer l'arrivée de gaz dans la salle et les zones voisines, ouvrir les fenêtres (si possible) et débrancher les appareils électriques susceptibles de produire des étincelles.
5. Eviter de respirer les vapeurs émises par le produit répandu.
6. Ventiler les locaux en chassant l'air vers l'extérieur, si l'opération est sans danger.
7. Se procurer le matériel nécessaire pour nettoyer (voir ci-dessus).

Gaz comprimés et liquéfiés

Le tableau 14 donne des conseils pour le stockage des gaz liquéfiés et comprimés.

Tableau 14. ***Stockage des gaz liquéfiés et comprimés***

BOUTEILLE	CONSEILS POUR LE STOCKAGE
Bouteilles de gaz comprimés et conteneurs de gaz liquéfiés[a,b]	• Doivent être solidement attachées (avec une chaîne par ex.) à un mur ou à une paillasse solide de façon à ne pas être déplacées par inadvertance. • Doivent être transportées munies de leur bouchon protecteur, au moyen d'un chariot. • Si elles sont en grande quantité, doivent être entreposées dansun bâtiment approprié à distance du laboratoire. Cette réserve doit être fermée à clef et identifiée par un panneau. • Ne doivent pas être placées à proximité d'un radiateur, de flammes nues ou d'autres sources de chaleur, ni de matériel électrique producteur d'étincelles, ni directement exposées au soleil.
Petites cartouches de gaz à usage unique[a,b]	• Ne doivent pas être incinérées.

[a] La vanne haute pression principale doit être fermée lorsque la bouteille n'est pas utilisée et que la salle est inoccupée.
[b] Les pièces dans lesquelles on utilise ou entrepose des bouteilles de gaz inflammables doivent être identifiées par des panneaux placés sur les portes.

Pour plus de plus amples informations, le lecteur est prié de consulter les références *1* et *49* à *51* ainsi que l'annexe 5.

18. Autres types de risques au laboratoire

Le personnel de laboratoire peut être exposé à des dangers liés à diverses formes d'énergie et notamment au feu, à l'électricité, aux rayonnements et au bruit. On trouvera dans ce chapitre, les données essentielles concernant chacun d'eux.

Risque d'incendie

Il est essentiel qu'il y ait une collaboration étroite entre les délégués à la sécurité et les responsables locaux de la sécurité incendie. Outre les risques de nature chimique, tout incendie présente un risque de dissémination de matériel biologique infectieux qu'il faut prendre en compte, éventuellement pour décider s'il est préférable d'éteindre l'incendie ou de le circonscrire.

Il est souhaitable de faire appel aux responsables locaux de la sécurité incendie pour la formation du personnel de laboratoire à la prévention, aux mesures immédiates à prendre en cas de sinistre et à l'utilisation du matériel de lutte contre les incendies.

Des panneaux, judicieusement placés bien en évidence dans chaque salle, dans les couloirs et les halls, devront mettre en garde le personnel et indiquer la conduite à tenir ainsi que les issues de secours à emprunter.

Les causes les plus courantes d'incendie au laboratoire sont les suivantes :

1. La surcharge électrique
2. Le mauvais entretien du circuit électrique, par ex. une isolation défectueuse ou en mauvais état
3. La longueur excessive des tuyaux de gaz et des rallonges électriques
4. Les appareils laissés allumés inutilement
5. Des appareils ou équipements qui n'ont pas été conçus pour une utilisation en laboratoire
6. Les flammes nues
7. Des tuyaux de gaz endommagés
8. Des négligences dans la manipulation et l'entreposage des produits inflammables ou explosifs
9. Des négligences dans la séparation des substances chimiques incompatibles
10. La présence d'appareils ou d'équipements produisant des étincelles à proximité de produits ou de vapeurs inflammables
11. Une ventilation mal adaptée ou insuffisante.

Tableau 15. ***Les divers types d'extincteurs et leur usage***

TYPE	À UTILISER SUR	À NE PAS UTILISER SUR
Eau	Papier, bois, tissu	Feux d'origine électrique, liquides inflammables, métaux incandescents
Dioxyde de carbone (CO_2) Gaz extincteurs	Liquides et gaz inflammables, feux d'origine électrique	Métaux alcalins, papier
Poudre	Liquides et gaz inflammables, métaux alcalins, feux d'origine électrique	Instruments et matériel réutilisables car les résidus sont très difficiles à éliminer
Mousse	Liquides inflammables	Feux d'origine électrique

Le matériel de lutte anti-incendie doit être placé à proximité des portes des salles et en divers points stratégiques des couloirs et des halls. Ce matériel peut consister en tuyaux souples, seaux (à eau ou à sable) et extincteurs. Les extincteurs doivent être régulièrement vérifiés et entretenus et on veillera à ce qu'ils ne soient pas périmés. Les divers types d'extincteurs et leur usage sont indiqués dans le tableau 15.

Pour de plus amples informations, le lecteur est prié de consulter la référence *49*.

Risques électriques

Il est essentiel que toutes les installations et l'appareillage électriques soient vérifiés et contrôlés régulièrement, y compris la mise à la terre.

Des disjoncteurs et notamment des disjoncteurs différentiels doivent être installés sur les circuits électriques des laboratoires. Les disjoncteurs ne protègent pas les personnes; leur rôle est de protéger les circuits d'une surcharge et, par conséquent, d'éviter les incendies. Les disjoncteurs différentiels sont eux destinés à protéger les personnes des chocs électriques.

Tout l'appareillage électrique du laboratoire doit être relié à la terre, au moyen de prises de terre, de préférence.

La totalité des appareils et circuits électriques du laboratoire doit être conforme aux normes nationales de sécurité électrique.

Bruit

Les effets d'une exposition durable à un bruit excessif sont insidieux. Certains appareils de laboratoire, comme par exemple certains types de lasers ou encore les installations qui abritent des animaux, peuvent entraîner une importante exposition de ce genre. On peut procéder à des mesures acoustiques pour déterminer le risque d'exposition au bruit. Si les données obtenues le justifient, on pourra envisager des

mesures techniques telles que l'encoffrage des équipements bruyants ou la pose de barrières ou d'écrans anti-bruit autour de ces équipments ou entre les zones bruyantes et les autres zones de travail. Si l'on ne peut pas réduire le niveau de bruit et que le personnel soit exposé en permanence à un bruit excessif, il faudra mettre en place un programme de protection auditive prévoyant le port d'oreillettes de protection pour les travaux en ambiance bruyante ainsi qu'une surveillance médicale du personnel pour déterminer les effets de cette nuisance.

Rayonnements ionisants

La radioprotection a pour but de mettre les sujets humains à l'abri des effets nocifs des rayonnements ionisants, effets qui consistent notamment :

1. En effets somatiques, par ex. des symptômes cliniques observables chez les sujets exposés. Il s'agit en particulier de cancers radio-induits, par exemple des leucémies ou encore des cancers osseux, pulmonaires ou cutanés, qui peuvent n'apparaître que plusieurs années après l'irradiation. D'autres effets moins graves peuvent consister en petites lésions cutanées, alopécie, anomalies sanguines, lésions des voies digestives ou cataracte.
2. En effets héréditaires, par ex. des symptômes qui s'observent dans la descendance des sujets exposés. Les effets héréditaires de l'irradiation des gonades consistent notamment en anomalies chromosomiques ou mutations géniques. L'irradiation à forte dose des cellules germinales présentes dans les gonades peut également entraîner la mort cellulaire, avec pour conséquence des troubles de la fertilité chez les deux sexes et une modification du cycle menstruel chez la femme. Une exposition du fœtus pendant son développement, en particulier entre la huitième et la quinzième semaine de la grossesse, peut accroître le risque de malformations congénitales, d'arriération mentale ou de cancers radio-induits plus tard dans la vie.

Les principes de la radioprotection contre les rayonnements ionisants

Pour limiter les effets nocifs des rayonnements ionisants, il faut réglementer l'utilisation des radio-isotopes, qui doit toujours respecter les normes nationales en la matière. La mise en œuvre de la radioprotection repose sur quatre principes :

1. Réduire le plus possible la durée d'exposition
2. Se tenir le plus loin possible de la source de rayonnement
3. Disposer un blindage autour de la source de rayonnement
4. Substituer aux radionucléides d'autres techniques non radiométriques.

Les mesures de protection sont les suivantes :

1. *Durée d'exposition*. On peut réduire la durée d'exposition au cours des manipulations de substances radioactives :
   — En s'exerçant à pratiquer les techniques nouvelles et non familières sans utiliser de radionucléide jusqu'à ce qu'on les maîtrise parfaitement

— En utilisant les radionucléides en temps voulu, avec prudence et sans précipitation
— En veillant à ce qu'une fois utilisées, toutes les sources radioactives soient immédiatement replacées dans leur lieu de stockage
— En éliminant fréquemment du laboratoire les déchets radioactifs
— En passant le moins de temps possible dans la zone ou dans le laboratoire où il y a risque d'irradiation
— En s'exerçant à bien gérer et planifier les manipulations de substances radioactives et leur durée.

Moins on passe de temps dans le champ d'irradiation, plus la dose reçue individuellement est faible, comme le montre l'équation suivante :

$$\textbf{Dose} = \textbf{Débit de dose} \times \textbf{temps}$$

2. *Distance à la source.* Pour la plupart des rayonnements γ ou X, le débit de dose varie comme l'inverse du carré de la distance à une source ponctuelle :

$$\textbf{Débit de dose} = \textbf{Constante} \times 1/\textbf{distance}^2$$

On voit donc que si on double la distance entre la source de rayonnement et l'opérateur, l'exposition sera divisée par quatre au cours de la même durée. On utilise divers dispositifs et systèmes mécaniques pour augmenter la distance entre l'opérateur et la source, par ex. des pinces de divers types et notamment à long manche ainsi que des dispositifs pour le pipettage à distance. A noter qu'une petite augmentation de la distance peut se traduire par une réduction non négligeable du débit de dose.

3. *Blindage.* En plaçant entre la source et l'opérateur ou les autres membre du personnel des écrans capables d'absorber l'énergie rayonnée ou de l'atténuer, on peut limiter leur exposition. Le choix du type d'écran et de son épaisseur dépend de la capacité de pénétration du rayonnement (c'est-a-dire de sa nature et de son énergie). Des écrans en résine acrylique, en bois ou en métal léger, d'une épaisseur de 1,3 à 1,5 cm protègent contre les particules β très énergétiques, mais pour protéger contre le rayonnement γ ou X de haute énergie, il est nécessaire d'utiliser des écrans au plomb de densité élevée.

4. *Substitution.* Il ne faut pas utiliser de radionucléides s'il existe d'autres techniques. Si l'on ne peut pas substituer une autre technique à une méthode radio-isotopique, il faudra utiliser le radionucléide dont le rayonnement soit le moins pénétrant ou le moins énergétique possible.

Il y a quatre types de règles pour le travail avec des substances radioactives, à savoir :

1. Celles qui concernent la zone d'irradiation

Régles de sécurité pour le travail avec des radionucléides

• •

Figure 12. ***Symbole international indiquant un risque d'irradiation***

2. Celles qui concerne la paillasse où s'effectue la manipulation
3. Celles qui concernent la gestion des déchets
4. Celles qui concernent les dossiers et la conduite à tenir en situation d'urgence.

Parmi les règles les plus importantes, on peut citer les suivantes :

1. *Zone d'irradiation*
   — N'utiliser de substances radioactives que dans les zones spécialement destinées à cet usage.
   — Seul le personnel indispensable doit être présent.
   — Porter un équipement protecteur individuel, notamment une tenue de laboratoire appropriée, des lunettes de sécurité et des gants jetables.
   — Porter un dosimètre personnel pour la surveillance de l'exposition au rayonnement.

   Les laboratoires où sont manipulés des radionucléides doivent être conçus de manière à ce que le confinement, le nettoyage et la décontamination soient simplifiés. La zone de travail sur les radionucléides doit être située dans une pièce de petites dimensions contiguë au laboratoire principal ou dans un secteur spécial de celui-ci, à distance des autres zones de travail. Des panneaux portant le symbole international de risque d'irradiation doivent être apposés à l'entrée de la zone d'irradiation (figure 12).

2. *Paillasse où s'effectue la manipulation*
   — Utiliser des plateaux contenant des matériaux absorbants jetables pour recueillir les liquides répandus.
   — Limiter la quantité de radionucléide utilisée.
   — Disposer un écran de protection autour des sources de rayonnement, de la paillasse et des secteurs où sont placés les déchets radioactifs.
   — Marquer le symbole de radioactivité sur les conteneurs de produits radioactifs en indiquant également la nature du radionucléide, son activité et la date de la mesure.

- — Utiliser des radiodosimètres pour le contrôle des zones de travail, des vêtements protecteurs et des mains une fois le travail achevé.
- — Utiliser des conteneurs de transport correctement blindés.

3. *Déchets radioactifs*
   - — Eliminer fréquemment les déchets radioactifs de la zone de travail.

4. *Dossiers et conduite à tenir en situation d'urgence*
   - — Tenir un registre exact de l'utilisation et de l'élimination des produits radioactifs.
   - — Compulser les dossiers dosimétriques à la recherche d'un dépassement éventuel de la dose limite pour certains produits.
   - — Mettre au point des plans d'action en cas de situation d'urgence et faire procéder régulièrement à des exercices.
   - — En cas d'urgence, s'occuper en premier lieu des accidentés.
   - — Nettoyer à fond les zones contaminées.
   - — En cas de nécessité, demander l'aide des services de sécurité.
   - — Rédiger un rapport en cas d'incident et l'archiver.

PARTIE VII

La sécurité : organisation et formation

19. Le responsable de la sécurité et le comité de sécurité

Il est indispensable que tout laboratoire ait un réglement de sécurité détaillé, un manuel de sécurité et un programme pour leur mise en application. La responsabilité en incombe normalement au directeur ou au chef de l'établissement ou du laboratoire, lequel peut cependant déléguer certaines tâches à un responsable de la sécurité (délégué à la sécurité) ou à d'autres membres compétents du personnel.

La sécurité au laboratoire est également l'affaire de tous, qu'il s'agisse des chefs de service ou de leurs subordonnés, et chaque membre du personnel est responsable de sa sécurité et de celle de ses collègues. Chacun est tenu de travailler dans le respect des règles de sécurité et doit rendre compte à son supérieur hiérarchique de toute action ou situation qui y contreviendraient ainsi que de tout incident.

Il est souhaitable de charger des consultants extérieurs ou des membres du personnel de procéder à des audits périodiques sur les conditions de sécurité.

Le délégué à la sécurité

Dans la mesure du possible, on nommera un responsable de la sécurité biologique qui sera chargé de veiller à ce que le réglement et les programmes de sécurité soient systématiquement respectés partout dans le laboratoire. C'est le délégué à la sécurité qui remplit ces obligations au nom du directeur de l'établissement ou du laboratoire. Dans les petites unités, le délégué à la sécurité peut être un microbiologiste ou un membre du personnel technique, qui assure ces fonctions à temps partiel dans des conditions déterminées. Quelle que soit la part d'activité consacrée à la sécurité, la personne désignée doit posséder les compétences professionnelles requises pour proposer, examiner ou approuver les mesures à prendre dans le prolongement des opérations de confinement ou de sécurité biologiques. Le délégué à la sécurité doit faire appliquer la réglementation et les directives nationales et internationales en matière de sécurité biologique et aider le laboratoire à établir des méthodes de travail normalisées. Il doit avoir une formation technique en microbiologie et en biochimie avec des connaissances de base en sciences physiques et en biologie. Il est également tout à fait souhaitable que le délégué à la sécurité connaisse bien les pratiques et les règles de sécurité au laboratoire et dans le domaine clinique, notamment en ce qui concerne le confinement du matériel biologique et les principes techniques relatifs à la conception, au fonctionnement et à la maintenance des installations. Il doit également

être capable de communiquer efficacement avec le personnel administratif et technique ainsi qu'avec le personnel de maintenance et de nettoyage.

Les tâches du délégué à la sécurité consisteront notamment à :

1. Procéder à des consultations sur la conformité aux règles de sécurité et de sûreté biologiques ainsi qu'aux impératifs techniques.
2. Organiser des audits de biosécurité internes périodiques, sur les techniques, les modes opératoires et les protocoles, les agents biologiques, le matériel et l'équipement.
3. S'entretenir avec les personnes concernées des infractions aux consignes et protocoles de sécurité biologique.
4. Vérifier auprès de tous les membres du personnel que ceux-ci ont reçu une formation appropriée en matière de sécurité biologique.
5. Assurer une formation continue en matière de sécurité biologique.
6. Enquêter après tout incident dû à la dissémination éventuelle de matériel, potentiellement infectieux ou toxique, rendre compte des résultats au directeur du laboratoire et au comité de sécurité biologique en leur faisant des recommandations appropriées.
7. Coopérer avec le service médical touchant la possibilité d'infections contractées par le personnel du laboratoire dans l'exercice de ses activités.
8. Veiller à ce que la décontamination soit correctement effectuée après renversement accidentel de liquides ou autres incidents survenus avec du matériel infectieux.
9. Veiller à la bonne gestion des déchets.
10. Veiller à ce que tout appareil ou équipement soit convenablement décontaminé avant une réparation ou un contrôle.
11. Sensibiliser le personnel aux attitudes de la collectivité vis-à-vis des questions touchant la santé et l'environnement.
12. Etablir la marche à suivre appropriée pour l'importation et l'exportation par le laboratoire de matériel biologique pathogène, en conformité avec la réglementation nationale.
13. Analyser, sous l'angle de la sécurité, tous les plans, protocoles et modes opératoires utilisés dans les travaux de recherche.
14. Etablir un système pour faire face aux situations d'urgence.

Le comité de sécurité biologique

Il convient de constituer un comité de sécurité biologique dont le rôle sera de définir la politique de l'établissement en matière de sécurité biologique et d'élaborer un code de bonnes pratiques. Le comité doit également examiner les protocoles de recherche comportant la manipulation d'agents infectieux, l'utilisation d'animaux, la mise en œuvre de techniques de recombinaison de l'ADN ou l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés. Le comité pourra également avoir pour fonctions d'évaluer les risques, d'élaborer un nouveau réglement en matière de sécurité biologique et d'arbitrer les conflits sur les questions de sécurité.

La composition d'un comité de sécurité doit être représentative des diverses branches professionnelles de l'établissement ainsi que de ses spécialités scientifiques. La composition d'un comité de sécurité devrait, au minimum, être la suivante :

1. Un ou plusieurs délégués à la sécurité
2. Des scientifiques
3. Du personnel médical
4. Un ou plusieurs vétérinaires (en cas d'expérimentation animale)
5. Des représentants du personnel technique
6. Des représentants de la direction du laboratoire.

Le comité de sécurité biologique doit également prendre conseil auprès des délégués à la sécurité des divers services et des spécialistes de la sécurité (par ex. de la radio-protection, de l'hygiène et sécurité industrielles, de la lutte contre l'incendie, etc.) et il pourra à l'occasion faire appel à des spécialistes extérieurs de différents domaines apparentés, aux autorités locales et aux organismes nationaux de réglementation. Lorsqu'un protocole particulièrement sensible ou litigieux est en discussion, il peut également être utile d'avoir l'avis de membres de la communauté.

20. La sécurité du personnel de maintenance et d'entretien

Le bon fonctionnement d'un laboratoire et sa sécurité reposent dans une large mesure sur le personnel de maintenance et d'entretien et il est donc essentiel qu'il reçoive la formation voulue aux questions de sécurité.

Services de maintenance des appareils et des bâtiments

Les ingénieurs et les ouvriers qualifiés qui assurent la maintenance et la réparation des bâtiments, des installations et de l'appareillage doivent avoir une certaine connaissance des activités du laboratoire ainsi que des règles et consignes de sécurité.

L'essai des appareils après révision, par exemple les contrôles d'efficacité des enceintes de sécurité biologique après le remplacement des filtres pourra être confié au délégué à la sécurité biologique ou effectué sous sa direction.

Les établissements et laboratoires qui ne disposent pas de leurs propres services techniques de maintenance doivent entretenir de bonnes relations avec les prestataires de services locaux et les familiariser avec leurs équipements et leurs activités.

Les ingénieurs et le personnel de maintenance ne doivent pas pénétrer dans des laboratoires de confinement – sécurité biologique niveaux 3 ou 4 sans une autorisation délivrée par le délégué à la sécurité ou le chef de laboratoire ou sans leur surveillance.

Nettoyage

Dans les laboratoires de confinement – sécurité biologique niveau 3 ou de confinement de haute sécurité – sécurité biologique niveau 4, le nettoyage doit être fait par le personnel du laboratoire. Dans le cas contraire, l'équipe de nettoyage ne doit intervenir dans ces laboratoires qu'avec l'autorisation du délégué à la sécurité biologique ou du chef de laboratoire ou sous leur surveillance.

21. Programmes de formation

Une formation continue en cours d'emploi est indispensable pour maintenir la sensibilisation aux questions de sécurité parmi le personnel de laboratoire et le personnel de maintenance ou d'entretien. Il appartient aux chefs de laboratoire, avec l'aide du délégué à la sécurité et d'autres personnes compétentes, d'assurer la formation du personnel. L'efficacité de cette formation, comme d'ailleurs de toute formation en santé et sécurité au travail, dépend d'un certain nombre de facteurs : engagement de la Direction, motivations des uns et des autres, bonne formation professionnelle initiale, bonne communication interpersonnelle et en fin de compte, buts et objectifs de l'établissement. Les points ci-dessous sont essentiels pour l'efficacité du programme de formation à la sécurité biologique.

1. ***Evaluer les besoins***. Il s'agit par là de définir les tâches à accomplir, par ordre d'importance (eu égard à leur fréquence, nécessité et complexité) et détail des opérations nécessaires à leur réalisation.
2. ***Fixer les objectifs de la formation***. C'est-à-dire les comportements observables que le personnel est supposé adopter dans son travail à l'issue de sa formation. Ces objectifs pourront être fixés en tenant compte des conditions dans lesquelles le personnel effectue certaines activités ou adopte certaines attitudes et du niveau de compétence exigé.
3. ***Préciser le contenu de la formation et les moyens pédagogiques utilisés***. On entend par contenu de la formation les connaissances ou compétences que le personnel doit acquérir pour atteindre les objectifs fixés en matière de comportement. Ce sont les personnes qui connaissent le type de travail et ses exigences qui sont le mieux à même de définir le contenu du programme de formation à la sécurité biologique. On peut également insister sur les résultats d'exercices consistant à résoudre divers problèmes ou mettre au point un système d'apprentissage pour corriger les erreurs commises par le personnel dans l'utilisation d'une technique donnée. Il n'est pas certain qu'il existe une méthode pédagogique (conférences, enseignement télévisé, enseignement assisté par ordinateur, vidéo interactive, etc.) qui soit meilleure que les autres. Les besoins particuliers du personnel en formation, la composition du groupe, etc. jouent à cet égard un rôle très important.
4. ***Prendre en compte les aptitudes individuelles à l'apprentissage***. Une formation bien pensée doit prendre en compte les caractéristiques et particularités des individus. Chaque individu ou groupe d'individus peut différer par ses aptitudes, son

bagage, sa culture, la langue dans laquelle il s'exprime et son niveau de compétence avant formation. La méthode utilisée pourra être dictée par le jugement que les personnes en formation portent sur la manière dont le programme peut améliorer leur compétence professionnelle et leur sécurité personnelle. Par exemple, certains individus ont une approche visuelle ou plutôt pratique de l'apprentissage, alors que d'autres préfèrent travailler sur des documents écrits. Il faut également être à l'écoute de tout besoin particulier exprimé par les personnes en formation; par exemple adapter les cours pour les malentendants. Outre la prise en compte de tous ces aspects, il est recommandé à toute personne qui prépare un programme de formation à la sécurité de se familiariser avec les principes de la formation des adultes.

5. ***Préciser les conditions de l'apprentissage***. Aucun élément de la formation, qu'il s'agisse d'un cours, d'une vidéocassette que l'on visionne ou de documents écrits que l'on consulte, ne doit être en contradiction ou sans rapport avec l'apprentissage de la technique ou de la question enseignée ou encore provoquer un blocage de cet apprentissage. Par exemple, si le but de la formation est d'améliorer l'aptitude à résoudre des problèmes, la méthode pédagogique doit privilégier la réflexion et le raisonnement plutôt que la mémorisation pure et simple. La formation dispensée doit requérir des apprenants qu'ils se montrent productifs et réagissent de manière appropriée (réponse positive, exacte ou crédible). En outre, tout élément de la formation qui fournit une occasion d'application pratique dans des conditions analogues à celles du poste de travail facilitera la mise en œuvre en situation réelle de la compétence acquise par l'apprenant.
6. ***Evaluer la formation***. Elle a pour but de fournir des informations qui permettront de savoir si l'instruction dispensée a atteint son but. Cette évaluation se fait généralement de quatre manières :
   — mesure de la réaction de l'apprenant à la formation dispensée
   — mesure du degré de restitution dont l'apprenant est capable ou de ses résultats
   — appréciation des changements de comportement dans le poste de travail
   — recherche et évaluation de résultats tangibles par rapport aux buts et objectifs de l'établissement.

   Pour procéder à une évaluation exhaustive de la formation, il faut répondre à ces quatre points. Le mode d'évaluation le moins efficace consiste à ne prendre en considération que les réactions de l'apprenant à l'instruction dispensée car elles peuvent être sans véritable rapport avec ce qui a été effectivement appris. Il ne faut en aucun cas utiliser cette méthode comme seule mesure de l'efficacité de la formation.
7. ***Réviser la formation***. Du fait de la multiplicité des critères de mesure des résultats, il est rare qu'une évaluation conduise à la conclusion que le programme de formation est un succès ou un échec total. En général, les résultats de l'évaluation indiquent que certaines parties du cours ont été mieux comprises, retenues ou

appliquées que d'autres. Si, à la suite d'un programme de formation, on constate des hauts et des bas ou des lacunes dans les connaissances ou les compétences souhaitées, c'est peut-être le signe qu'il faut envisager de prolonger la formation, de changer de méthodes pédagogiques ou de recruter des formateurs plus compétents.

L'OMS peut fournir divers outils pour la formation à la sécurité microbiologique.

PARTIE VIII

Liste des contrôles de sécurité

22. Liste des contrôles de sécurité

Cette liste est destinée à faciliter l'évaluation du degré de sécurité et de sûreté microbiologiques dans les laboratoires biomédicaux.

Locaux

1. Les principes directeurs relatifs à la mise en service et à l'agrément du laboratoire ont-ils été pris en compte pour la construction des installations ou les expertises ultérieures ?
2. Les locaux sont-ils conformes à la réglementation nationale et locale en matière de travaux publics, notamment en ce qui concerne la résistance aux catastrophes naturelles ?
3. Les locaux sont-ils généralement en bon ordre et non encombrés ?
4. Sont-ils propres ?
5. Y a t-il des défauts de structure au niveau des sols ?
6. Les sols et les marches d'escaliers sont-ils réguliers et antidérapants ?
7. Est-ce que l'espace est suffisant pour pouvoir travailler sans danger ?
8. Est-ce que les dégagements et les couloirs sont assez larges pour le passage du personnel et des gros appareils ?
9. Les paillasses et autres plans de travail, le mobilier et les installations sont-ils en bon état ?
10. La surface des paillasses et autres plans de travail est-elle résistante aux solvants et aux produits chimiques corrosifs ?
11. Y a-t-il un lavabo dans chaque salle du laboratoire ?
12. Est-ce que la construction et l'entretien des locaux permettent d'empêcher l'entrée et l'installation de rongeurs ou d'arthropodes ?
13. Est-ce que toutes les conduites d'eau chaude ou de vapeur apparentes sont isolées ou protégées pour que le personnel ne se brûle pas ?
14. Le laboratoire dispose-t-il d'un groupe électrogène pour assurer le relais en cas de panne électrique ?
15. L'accès aux locaux du laboratoire peut-il être limité aux seules personnes autorisées ?
16. A-t-on procédé à une évaluation du risque pour s'assurer que le laboratoire dispose des installations et équipements voulus pour l'exécution de ses tâches ?

Entreposage

1. Les systèmes d'entreposage et de rangement (étagères, etc.) sont-ils conçus pour que le matériel entreposé ne puisse ni glisser, ni se renverser, ni tomber ?
2. Les aires d'entreposage sont-elles encombrées de débris, d'objets inutiles et inutilisables sur lesquels on pourrait trébucher, qui pourraient prendre feu ou héberger de la vermine ?
3. Les congélateurs et aires d'entreposage peuvent-ils être fermés à clef ?

Assainissement et locaux pour le personnel

1. Les locaux sont-ils propres, bien tenus et dans de bonnes conditions d'hygiène ?
2. Dispose-t-on d'eau potable ?
3. Y a-t-il des toilettes et les lavabos séparés pour les hommes et les femmes et sont-ils satisfaisants et propres ?
4. Y trouve-t-on de l'eau chaude et froide, du savon et des essuie-mains ?
5. Les vestiaires sont-ils séparés pour les hommes et pour les femmes ?
6. Chaque membre du personnel peut-il laisser ses vêtements de ville dans un endroit prévu à cet effet (armoires, par ex.) ?
7. Une pièce est-elle réservée au personnel pour le déjeuner, etc. ?
8. Le niveau sonore est-il acceptable ?
9. Le ramassage des poubelles contenant les déchets ordinaires est-il satisfaisant ?

Chauffage et ventilation

1. La température du lieu de travail est-elle confortable ?
2. Y a-t-il des stores aux fenêtres situées en plein soleil ?
3. La ventilation est-elle satisfaisante (air renouvelé par ex. au moins six fois par heure) en particulier dans les pièces où elle est mécanique ?
4. Le système de ventilation est-il muni de filtres HEPA ?
5. La ventilation mécanique perturbe-t-elle les flux laminaires à l'intérieur et autour des enceintes de sécurité biologique et des hottes ou sorbonnes ?

Eclairage

1. L'éclairage général est-il satisfaisant (par ex. 300 à 400 lux) ?
2. Un éclairage local est-il fourni au-dessus des paillasses ?
3. Les pièces sont-elles partout bien éclairées ou subsiste-t-il des coins sombres dans les pièces et les couloirs ?
4. Les tubes fluorescents sont-ils parallèles à la surface des paillasses et des plans de travail ?
5. Les tubes fluorescents ont-ils un spectre équilibré ?

Services

1. Chaque salle du laboratoire est-elle équipée avec suffisamment d'éviers, de robinets d'eau et de gaz et de prises de courant pour que l'on puisse travailler sans danger ?

2. A-t-on mis en place un programme convenable d'inspection et de maintenance pour les fusibles, les lampes et tubes, les câbles, les canalisations, etc. ?
3. Les pannes sont-elles réparées dans un délai raisonnable ?
4. Existe-t-il un service technique interne chargé de la maintenance avec des ingénieurs et des ouvriers compétents ayant une certaine connaissance des travaux qui sont effectués dans le laboratoire ?
5. L'accès de ce personnel technique de maintenance aux locaux du laboratoire est-il réglementé et enregistré ?
6. S'il n'existe pas de service technique interne chargé de la maintenance, a-t-on pris contact avec des ingénieurs et des constructeurs du lieu pour les familiariser avec l'appareillage et les activités du laboratoire ?
7. Le laboratoire dispose-t-il d'un service de nettoyage ?
8. L'accès de l'équipe de nettoyage aux divers locaux du laboratoire est-il réglementé et enregistré ?
9. Existe-t-il un service informatique et ce service est-il sécurisé ?

Sûreté biologique en laboratoire

1. A-t-on procédé à une analyse qualitative des risques pouvant peser sur le laboratoire afin de déterminer contre quels risques le laboratoire doit être protégé ?
2. A-t-on défini les risques acceptables et les paramètres pour la planification de la réponse aux incidents ?
3. Lorsqu'il n'y a personne, le bâtiment est-il bien totalement fermé à clef ?
4. Les portes et les fenêtres sont-elles construites pour résister à une effraction ?
5. Les pièces contenant des matériels dangereux et des appareils coûteux sont-elles fermées à clef lorsqu'il n'y a personne ?
6. L'accès à ces pièces, appareils et matériels est-il réglementé et enregistré ?

Prévention des incendies et protection contre le feu

1. Y a-t-il un système d'alarme incendie ?
2. Les portes coupe-feu sont-elles en bon état ?
3. Le laboratoire dispose-t-il de détecteurs d'incendie et ces détecteurs sont-ils en bon état de marche et régulièrement vérifiés ?
4. Les postes d'alarme incendie sont-ils accessibles ?
5. Les sorties sont-elles toutes indiquées par un panneau lumineux adéquat ?
6. L'accès aux sorties est-il indiqué lorsqu'il n'est pas directement visible ?
7. Toutes les sorties sont-elles dégagées et non dissimulées ou encombrées par des éléments décoratifs, du mobilier ou des appareils et les portes sont-elles déverrouillées lorsque le bâtiment est occupé ?
8. L'accès aux sorties est-il prévu pour que l'on puisse fuir sans avoir à traverser une zone à haut risque ?
9. Les sorties débouchent-elles toutes à l'extérieur ?

10. Les couloirs, dégagements, passages, etc. sont-ils libres et dégagés pour permettre la circulation du personnel et du matériel de lutte anti-incendie ?
11. Le matériel et les équipements de lutte anti-incendie sont-ils facilement identifiables par un code de couleur approprié ?
12. Existe-t-il des extincteurs portatifs toujours pleins, en bon état et à la place prévue ?
13. Les salles du laboratoire où existe un risque d'incendie sont-elles équipées d'extincteurs et de couvertures anti-feu utilisables en cas d'urgence ?
14. Si des gaz ou des liquides inflammables sont utilisés dans une pièce, la ventilation mécanique est-elle suffisante pour éliminer les vapeurs avant qu'elles n'atteignent une concentration dangereuse ?
15. A-t-on appris au personnel comment se comporter en cas d'incendie ?

Stockage des liquides inflammables

1. Est-ce que les réserves de liquides inflammables sont stockées dans un endroit séparé du bâtiment principal ?
2. Un panneau de risque incendie est-il visiblement apposé à l'entrée du local ?
3. Le local est-il équipé d'un système de ventilation naturelle ou forcée distinct du bâtiment principal ?
4. Les interrupteurs électriques sont-ils antidéflagrants ou placés à l'extérieur du bâtiment ?
5. Le système d'éclairage du local est-il antidéflagrant pour que les vapeurs ne risquent pas de s'enflammer au contact des étincelles ?
6. Les liquides inflammables sont-ils conservés dans des récipients ventilés appropriés, fabriqués avec des matériaux incombustibles ?
7. Le contenu des récipients est-il correctement indiqué sur l'étiquette ?
8. Des extincteurs ou des couvertures anti-feu appropriés sont-ils placés à l'extérieur, mais à proximité de la réserve de liquides inflammables ?
9. Des panneaux « Défense de fumer » sont-ils apposés bien visiblement à l'intérieur et à l'extérieur de la réserve ?
10. Est-ce que la quantité de produits inflammables conservés dans les salles du laboratoire est la plus faible possible ?
11. Ces produits sont-ils conservés dans des armoires de sécurité anti-feu ?
12. Ces armoires portent-elles des panneaux indiquant la présence de produits inflammables et un risque d'incendie ?
13. Le personnel a-t-il appris à transporter et à utiliser correctement les liquides inflammables ?

Gaz comprimés et liquéfiés

1. Chaque bouteille de gaz portable est-elle étiquetée correctement (code de couleur et contenu) ?
2. Le bon état des bouteilles de gaz et de leurs manodétendeurs est-il régulièrement vérifié ?

3. Les manodétendeurs sont-ils régulièrement entretenus ?
4. Quand une bouteille est utilisée, se sert-on d'un manodétendeur ?
5. Quand les bouteilles ne sont pas utilisées ou sont transportées, sont-elles fermées par un bouchon protecteur ?
6. Toutes les bouteilles de gaz comprimés sont-elles rangées de manière à ne pas pouvoir tomber, notamment en cas de catastrophe naturelle ?
7. Les bouteilles et les fûts de gaz de pétrole liquéfié sont-ils placés loin des sources de chaleur ?
8. Le personnel a-t-il appris à utiliser et à transporter correctement les gaz comprimés ou liquéfiés ?

Risques électriques

1. Toutes les installations neuves, remplacées, modifiées ou réparées sont-elles conformes aux normes nationales en matière de sécurité électrique et maintenues telles ?
2. Le câblage intérieur des bâtiments est-il relié à la terre ?
3. Tous les circuits du laboratoire sont-ils munis de disjoncteurs et de disjoncteurs différentiels ?
4. Les appareils électriques sont-ils tous agréés par un laboratoire d'essai ?
5. Les câbles d'alimentation souples de tous les appareils sont-ils aussi courts que possible, en bon état, sans usure, dommage ou raccord ?
6. Chaque prise n'est-elle utilisée que pour un seul appareil (pas d'adaptateurs) ?

Protection individuelle

1. Tous les membres du personnel du laboratoire disposent-ils de vêtements protecteurs dont le modèle et l'étoffe ou le matériau sont approuvés, tels que blouses, sarraus, combinaisons, tabliers ou gants ?
2. Le personnel qui travaille sur des produits chimiques dangereux ou sur des substances radioactives ou cancérogènes dispose-t-il d'accessoires de protection supplémentaires tels que tabliers et gants de caoutchouc pour la manipulation des produits chimiques et le traitement des liquides répandus ou gants résistants à la chaleur pour le déchargement des autoclaves et des fours ?
3. Le personnel dispose-t-il de lunettes de sécurité, de lunettes à coques et d'écrans faciaux (visières) ?
4. Existe-t-il des postes pour le rinçage des yeux ?
5. Existe-t-il des douches d'urgence ?
6. Les mesures de radioprotection sont-elles conformes aux normes nationales et internationales, et comportent-elles la fourniture de dosimètres individuels ?
7. Le laboratoire dispose-t-il de masques respiratoires régulièrement nettoyés, désinfectés, vérifiés et rangés de manière hygiénique dans un endroit propre ?
8. Les masques respiratoires sont-ils dotés des cartouches filtrantes de modèle approprié, notamment de filtres HEPA pour retenir les micro-organismes et de filtres spéciaux pour les gaz ou les particules ?

9. Vérifie-t-on si les masques respiratoires sont bien adaptés aux personnes qui doivent les porter ?

Santé et sécurité du personnel

1. Existe-t-il un service de médecine du travail ?
2. Y a-t-il des armoires à pharmacie ou trousses de premiers soins aux endroits adéquats ?
3. Y a-t-il des secouristes qualifiés ?
4. Ces secouristes sont-ils formés pour les premiers soins correspondant aux dangers propres au laboratoire : contact avec des produits chimiques corrosifs, ingestion accidentelle de toxiques ou de matériel biologique infectieux ?
5. Le personnel qui ne travaille pas dans le laboratoire (nettoyage et administration) est-il informé des risques que représente le matériel biologique manipulé ?
6. Des affiches judicieusement placées indiquent-elles où se trouvent les postes de premiers secours, les numéros de téléphone des services d'urgence, etc.
7. Les femmes en âge de procréer sont-elles informées des conséquences que peut avoir la manipulation de certains micro-organismes, substances cancérogènes, mutagènes ou tératogènes ?
8. A-t-on dit aux femmes en âge de procréer que si elles sont enceintes, ou pensent l'être, elles doivent prévenir le membre responsable du service médical ou du personnel scientifique, de façon que des mesures concernant leur travail puissent être prises si nécessaire ?
9. Existe-t-il un programme de vaccination adapté au travail du laboratoire ?
10. Peut-on pratiquer des tests cutanés ou existe-t-il un service de radiologie pour la surveillance médicale du personnel qui travaille sur des matériels contenant des bacilles tuberculeux ou d'autres matériels justifiant ce genre de contrôle ?
11. Existe-t-il un registre bien tenu des accidents et des maladies ?
12. Des panneaux de prévention des accidents et de mise en garde sont-ils utilisés pour réduire les accidents du travail ?
13. Le personnel est-il entraîné à suivre les instructions appropriées pour la sécurité biologique ?
14. Le personnel du laboratoire est-il invité à signaler les risques d'exposition ?

Appareils et équipements de laboratoire

1. Tous les appareils sont-ils agréés sur le plan de la sécurité ?
2. Existe-t-il des protocoles pour la décontamination du matériel avant la maintenance ?
3. Les enceintes de sécurité biologique et les hottes ou sorbonnes sont-elles régulièrement vérifiées et révisées ?
4. Les autoclaves et autres appareils fonctionnant sous pression sont-ils régulièrement inspectés ?

5. Les rotors et les pots à centrifuger sont-ils régulièrement inspectés ?
6. Les filtres HEPA sont-ils régulièrement changés ?
7. Utilise-t-on des aiguilles hypodermiques au lieu de pipettes ?
8. La verrerie fêlée ou ébréchée est-elle toujours jetée et non réutilisée ?
9. Existe-t-il des conteneurs de sécurité pour le verre cassé ?
10. Utilise-t-on du plastique plutôt que du verre lorsque c'est possible ?
11. Existe-t-il des conteneurs spéciaux pour les objets tranchants ou pointus et sont-ils effectivement utilisés ?

Matériel infectieux

1. Reçoit-on les échantillons dans de bonnes conditions de sécurité ?
2. Tient-on un registre des arrivées de matériel biologique ?
3. L'emballage des échantillons est-il ouvert avec soin et prudence, en prévision d'une casse ou d'une fuite possibles ?
4. Porte-t-on des gants ou tout autre type de protection pour défaire l'emballage des échantillons ?
5. Le personnel a-t-il été formé pour expédier les substances infectieuses conformément à la réglementation nationale ou internationale ?
6. Les paillasses et plans de travail sont-ils propres et en ordre ?
7. Le matériel infectieux jeté est-il éliminé tous les jours ou plus souvent, et conformément aux normes de sécurité ?
8. Tous les membres du personnel sont-ils informés des méthodes à utiliser pour le nettoyage après casse ou renversement accidentel de récipients contenant des cultures ou du matériel biologique infectieux ?
9. Le fonctionnement des stérilisateurs est-il vérifié au moyen d'indicateurs chimiques, physiques ou biologiques ?
10. Est-il prévu de décontaminer les centrifugeuses régulièrement ?
11. Dispose-t-on de pots étanches pour les centrifugeuses ?
12. Utilise-t-on les bons désinfectants ? Sont-ils utilisés correctement ?
13. Y a-t-il une formation spéciale pour le personnel qui travaille dans les laboratoires de confinement – sécurité biologique niveau 3 et les laboratoires de confinement à haute sécurité – sécurité biologique niveau 4 ?

Produits chimiques et matières radioactives

1. Les produits chimiques incompatibles sont-ils bien entreposés ou manipulés séparément les uns des autres ?
2. Les produits chimiques sont-ils tous correctement étiquetés, avec nom et mise en garde ?
3. Les panneaux de risque chimique sont-ils bien en évidence ?
4. Existe-t-il des nécessaires contenant le matériel voulu pour nettoyer les liquides répandus accidentellement ?

5. Le personnel connaît-il la conduite à tenir en cas de renversement accidentel ?
6. Les produits inflammables sont-ils entreposés correctement et en petite quantité dans des armoires agréées ?
7. Dispose-t-on de portoirs pour les bouteilles ?
8. Y a-t-il un responsable de la radioprotection ou un manuel que l'on puisse consulter ?
9. Le personnel a-t-il suivi une formation pour le travail avec des matières radioactives dans de bonnes conditions de sécurité ?
10. Un registre des stocks et de l'utilisation des matières radioactives existe-t-il et est-il tenu correctement ?
11. Le laboratoire dispose-t-il d'écrans de blindage pour la protection contre la radioactivité ?
12. La surveillance dosimétrique du personnel est-elle assurée ?

PARTIE IX

Bibliographie, annexes et index

Bibliographie

1. *Safety in health-care laboratories*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1997, (http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_LAB_97.1.pdf).
2. Garner JS, Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:24–52, (http://www.cdc.gov/ncidod/hip/isolat/isolat.htm).
3. Hunt GJ, Tabachnick WJ. Handling small arbovirus vectors safely during biosafety level 3 containment : *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera : Ceratopogonidae) and exotic bluetongue viruses. *Journal of Medical Entomology*, 1996, 33:271–277.
4. National Research Council. *Occupational health and safety in the care and use of research animals*. Washington, DC, National Academy Press, 1997.
5. Richmond JY, Quimby F. Considerations for working safely with infectious disease agents in research animals. In : Zak O, Sande MA, eds. *Handbook of animal models of infection*. London, Academic Press, 1999:69–74.
6. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 4th ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 1999.
7. *Class II (laminar flow) biohazard cabinetry*. Ann Arbor, MI, National Sanitation Foundation, 2002 (NSF/ANSI 49-2002).
8. Richmond JY, McKinney RW. *Primary containment for biohazards : selection, installation and use of biological safety cabinets*, 2nd ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 2000.
9. *Microbiological safety cabinets. Recommendations for information to be exchanged between purchaser, vendor and installer and recommendations for installation*. London, British Standards Institution, 1992 (Standard BS 5726-2:1992).
10. *Microbiological safety cabinets. Recommendations for selection, use and maintenance*. London, British Standards Institution, 1992 (Standard BS 5726-4:1992).
11. *Biological containment cabinets (Class I and II) : installation and field testing*. Toronto, Canadian Standards Association, 1995 (Standard Z316.3-95 (R2000)).
12. Collins CH, Kennedy DA. *Laboratory acquired infections : history, incidence, causes and prevention*, 4th ed. Oxford, Butterworth-Heinemann, 1999.
13. Santé Canada. *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*, 2^{e} éd., Ottawa, Ministre des Approvisionnements et Services Canada, 1996.
14. *Biological safety cabinets – biological safety cabinets (Class I) for personnel and environment protection*. Sydney, Standards Australia International, 1994 (Standard AS 2252.1-1994).
15. *Biological safety cabinets – laminar flow biological safety cabinets (Class II) for personnel, environment and product protection*. Sydney, Standards Australia International, 1994 (Standard AS 2252.2-1994).

16. Standards Australia/Standards New Zealand. *Biological safety cabinets – installation and use*. Sydney, Standards Australia International, 2000 (Standard AS/NZS 2647:2000).
17. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. *Guidance on the use, testing and maintenance of laboratory and animal flexible film isolators*. London, Health and Safety Executive, 1990.
18. Standards Australia/Standards New Zealand. *Safety in laboratories – microbiological aspects and containment facilities*. Sydney, Standards Australia International, 2002 (Standard AS/NZS 2243.3:2002).
19. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1987, 36 (Suppl. 2) :1S–18S.
20. Bosque PJ et al. Prions in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99:3812–3817.
21. Bartz JC, Kincaid AE, Bessen RA. Rapid prion neuroinvasion following tongue infection. *Journal of Virology*, 2003, 77:583–591.
22. Thomzig A et al. Widespread PrP^{Sc} accumulation in muscles of hamsters orally infected with scrapie. *EMBO Reports*, 2003, 4:530–533.
23. Glatzel M et al. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeld-Jakob disease. *New England Journal of Medicine*, 2003, 349:1812–1820.
24. Brown P, Wolff A, Gajdusek DC. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfield-Jakob disease. *Neurology*, 1990, 40:887–890.
25. Taylor DM et al. The effect of formic acid on BSE and scrapie infectivity in fixed and unfixed brain-tissue. *Veterinary Microbiology*, 1997, 58:167–174.
26. Safar J et al. Prions. In : Richmond JY, McKinney RW, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 4th ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services, 1999:134–143.
27. Bellinger-Kawahara C et al. Purified scrapie prions resist inactivation by UV irradiation. *Journal of Virology*, 1987, 61:159–166.
28. Health Services Advisory Committee. *Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories*. London, HSE Books, 1991.
29. Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ. *Disinfection, preservation and sterilization*, 3rd ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1999.
30. Ascenzi JM. *Handbook of disinfectants and antiseptics*. New York, NY, Marcel Dekker, 1996.
31. Block SS. *Disinfection, sterilization & preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
32. Rutala WA. APIC guideline for selection and use of disinfectants. 1994, 1995, and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, INC. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:313–342.
33. Sattar SA, Springthorpe VS, Rochon M. A product based on accelerated and stabilized hydrogen peroxide : evidence for broad-spectrum germicidal activity. *Canadian Journal of Infection Control*, 1998, 13:123–130.
34. Schneider PM. Emerging low temperature sterilization technologies. In : Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:79–92.
35. Springthorpe VS. New chemical germicides. In : Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:273–280.
36. Steelman VM. Activity of sterilization processes and disinfectants against prions. In : Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:255–271.

37. Taylor DM. Transmissible degenerative encephalopathies : inactivation of the unconventional causal agents. In : Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ, eds. *Disinfection*, *preservation and sterilization*, 3rd ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1999:222–236.
38. *Guide de prévention des infections : lavage des mains, nettoyage, désinfection et stérilisation dans les établissements de santé*, 2e éd. Ottawa, Laboratoire de lutte contre la maladie, Bureau des maladies infectieuses, Santé Canada, 1998.
39. Springthorpe VS, Sattar SA. Chemical disinfection of virus-contaminated surfaces. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 1990, 20:169–229.
40. *Recommandations relatives au transport des marchandises dangereuses*, treizième édition révisée, New York et Genève, Nations Unies, 2003, (http://www.unece.org/trans/danger/publi/unrec/rev13/13files_f.html).
41. *Instructions techniques pour la sécurité du transport aérien des marchandises dangereuses*, Édition de 2003–2004. Montréal, Organisation de l'Aviation civile internationale, 2002.
42. Comité des Transports Intérieurs de la Commission Économique pour l'Europe. *ADR restructuré en vigueur le 1er Janvier 2003*. New York et Genève, Nations Unies, 2002, (http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr2003/ContentsF.html).
43. *Infectious substances shipping guidelines*. Montreal, International Air Transport Association, 2003, (http://www.iata.org/ads/issg.htm).
44. *Transport des substances infectieuses*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2004, (http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_9Fr/en/).
45. Berg P et al. Asilomar conference on recombinant DNA molecules. *Science*, 1975, 188:991–994.
46. Union Européenne, Directive 98/81/CE du Conseil du 26 octobre 1998 modifiant la directive 90/219/CEE relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés. *Journal officiel des Communautés européennes*, 1998, L330:13–31.
47. O'Malley BW Jr et al. Limitations of adenovirus-mediated interleukin-2 gene therapy for oral cancer. *Laryngoscope*, 1999, 109:389–395.
48. Organisation mondiale de la Santé. Maintenance and distribution of transgenic mice susceptible to human viruses : memorandum from a WHO meeting. *Bulletin of the World Health Organization*, 1993, 71:497–502.
49. Furr AK. *CRC handbook of laboratory safety*, 5th ed. Boca Raton, FL, CRC Press, 2000.
50. Lenga RE. *The Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety Data*, 2nd ed. Milwaukee, WI, Aldrich Chemical Company, 1988.
51. Lewis RJ. *Sax's dangerous properties of industrial materials*, 10th ed. Toronto, John Wiley and Sons, 1999.

ANNEXE 1

Premiers secours

Les premiers secours consistent dans l'application immédiate, par des personnes qualifiées, de principes médicaux reconnus sur le lieu d'un accident. C'est la méthode admise pour traiter un accidenté en attendant qu'il puisse être pris en charge par un médecin en vue du traitement définitif de ses lésions.

Le matériel minimum pour les premiers secours se compose d'une trousse de premiers soins, de vêtements de protection et d'équipements de sécurité pour le secouriste ainsi que d'un dispositif d'irrigation oculaire.

Trousse de premiers soins

Cette trousse doit être faite d'un matériau qui protège le contenu de la poussière et de l'humidité. Elle doit être placée bien en vue et être facilement reconnaissable. Par convention internationale, elle est marquée d'une croix blanche sur fond vert.

La trousse de premiers soins doit contenir :

1. Une fiche d'information donnant des conseils généraux
2. Des pansements adhésifs stériles de diverses tailles en emballage individuel
3. Des tampons oculaires avec leurs bandages de fixation
4. Des bandages triangulaires
5. Des compresses stériles pour couvrir les plaies
6. Des épingles de nourrice
7. Un assortiment de pansements stériles mais non imprégnés
8. Un manuel de premiers soins faisant autorité, publié par ex. par la Croix-Rouge.

Equipement de protection pour le secouriste :

1. Une protection buccale pour le bouche à bouche
2. Des gants et autres dispositifs de protection mécanique pour éviter une contamination par le sang[1], et
3. Un nécessaire pour nettoyer le sang répandu (voir chapitre 14).

Il faut également un dispositif pour l'irrigation oculaire et le personnel doit avoir appris à s'en servir.

[1] Garner JS, Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:24–52 (http://www.cdc.gov/ncidod/hip/isolat/isolat.htm).

ANNEXE 2

Vaccination du personnel

Il faut s'entretenir en détail avec chaque chercheur des risques que comporte le travail sur tel ou tel agent infectieux. Avant de commencer à travailler sur ces agents, il convient de se renseigner sur la possibilité de se procurer localement des vaccins et des médicaments (par ex. des antibiotiques), sur leur autorisation de mise sur le marché et sur leur utilité. Certains membres du personnel peuvent être déjà immunisés en raison d'une vaccination ou d'une maladie infectieuse antérieures.

Si un vaccin ou une anatoxine appropriés sont autorisés à la vente sur le marché local et que l'on puisse se les procurer, il faut en proposer l'administration si une évaluation du risque et l'examen clinique de la personne en cause concluent à la possibilité d'une exposition.

Il faut également que l'établissement dispose d'une installation où les personnes victimes d'une contamination accidentelle puissent bénéficier de la prise en charge clinique correspondant à leur cas.

ANNEXE 3

Centres collaborateurs de l'OMS pour la sécurité biologique

Pour obtenir des renseignements sur les cours, outils et matériels pédagogiques dans le domaine de la sécurité biologique, le lecteur peut s'adresser par écrit aux organismes suivants :

- Programme de sécurité biologique, Département maladies transmissibles : surveillance et action, Organisation mondiale de la Santé, 20 Avenue Appia, 1211 Genève 27, Suisse (http://www.who.int/csr/).
- WHO Collaborating Centre for Biological Safety, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Nobels Väg 18, S-171 82 Solna, Suède (http://www.smittskyddsinstitutet.se/English/english.htm).
- WHO Collaborating Centre on Biosafety Technology and Consultative Services, Bureau de la sécurité des laboratoires, Santé Canada, 100 Colonnade Road, Loc. : 6201A, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0K9 (http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/ols-bsl).
- WHO Collaborating Centre for Applied Biosafety Programmes and Training, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, Mailstop F05, Atlanta, GA 30333, Etats-Unis d'Amérique (http://www.cdc.gov/).
- WHO Collaborating Centre for Applied Biosafety Programmes and Research, Division of Occupational Health and Safety, Office of Research Services, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, 13/3K04 13 South Drive, MSC 5760, Bethesda, MD 20892-5760, Etats-Unis d'Amérique (http://www.nih.gov/).
- WHO Collaborating Centre for Biosafety, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, 10 Wreckyn St, Nth Melbourne, Victoria 3051, Australie. Adresse postale : Locked Bag 815, PO Carlton Sth, Victoria 3053, Australie (http://www.vidrl.org.au/).

ANNEXE 4

Sécurité d'emploi des appareils et instruments

L'utilisation de certains appareils et instruments peut comporter un risque microbiologique. D'autres, au contraire, sont spécialement conçus pour prévenir ou réduire les risques biologiques (voir chapitre 11).

Appareils et instruments dont l'utilisation peut comporter un risque

Le tableau A4-1 donne la liste des appareils, instruments et manipulations qui comportent un risque et fournit des indications sur la manière d'éliminer ou de réduire ce risque.

Tableau A4–1. ***Appareils, instruments et manipulations comportant des risques***

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
Aiguilles hypodermiques	Inoculation accidentelle, aérosols, renversements	• Ne pas recapuchonner ni casser les aiguilles. • Utiliser des aiguilles avec système de blocage pour éviter la séparation accidentelle de l'aiguille et de la seringue ou utiliser un système jetable dans lequel l'aiguille et la seringue sont indissociables. • Appliquer de bonnes techniques de laboratoire : — Remplir soigneusement la seringue pour réduire la formation de bulles et de mousse. — Eviter d'utiliser des seringues pour mélanger des liquides infectieux; si on ne peut faire autrement, veiller à ce que l'extrémité de l'aiguille soit sous la surface du liquide qui se trouve dans le récipient et éviter d'exercer trop de pression.

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
		— Avant de retirer une aiguille plantée dans un bouchon de caoutchouc fermant un flacon, envelopper l'aiguille et le bouchon dans un tampon de coton imprégné d'un désinfectant approprié. — Rejeter l'excès de liquide et les bulles d'air en tenant la seringue verticalement, dans un tampon de coton imprégné d'un désinfectant approprié ou dans un petit flacon contenant du coton. • Utiliser une enceinte de sécurité biologique pour toutes les manipulations sur du matériel biologique infectieux. • Placer les animaux dans un dispositif de contention pour les inoculer. Utiliser des aiguilles ou des canules mousses pour l'inoculation intranasale ou orale. Employer une enceinte de sécurité biologique. • Après usage, autoclaver et veiller à éliminer convenablement. Si on utilise un ensemble jetable aiguille-seringue, ne pas les désolidariser avant l'autoclavage.
Centrifugeuses	Aérosols, projections et bris de tubes	• Utiliser des pots à centrifuger (de sécurité) ou des rotors scellés. N'ouvrir les pots ou les rotors qu'après les avoir laissé reposer pendant 30 min ou le faire dans une enceinte de sécurité biologique.
Ultracentrifugeuses	Aérosols, projections et bris de tubes	• Monter un filtre HEPA entre la centrifugeuse et la pompe à vide. • Tenir un registre d'utilisation pour chacun des rotors et mettre en œuvre un programme de maintenance préventive pour réduire le risque de pannes mécaniques. • Remplir et vider les pots à centrifuger dans une enceinte de sécurité biologique.
Jarres anaérobies	Explosion, dispersion de matériel infectieux	• Vérifier que le panier métallique qui renferme le catalyseur est en bon état.

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
Dessiccateurs	Implosion, dispersion de morceaux de verre et de matériel infectieux	• A placer dans une cage métallique solide.
Homogénéisateurs et broyeurs de tissus	Aérosols, fuites et casse	• Faire fonctionner et ouvrir dans une enceinte de sécurité biologique. • Utiliser des modèles spécialement conçus pour éviter les fuites au niveau des paliers des rotors et des joints circulaires ou utiliser un broyeur de type stomacher. • Attendre 30 min avant d'ouvrir le bol de l'homogénéiseur pour que l'aérosol ait le temps de se déposer. Réfrigérer pour condenser l'aérosol. • Si l'on utilise un broyeur manuel, tenir le tube dans un tampon de matériau absorbant.
Sonificateurs, nettoyeurs à ultrasons	Aérosols, lésions de l'appareil auditif, dermite	• Faire fonctionner et ouvrir l'appareil dans une enceinte de sécurité biologique. • Isoler l'appareil pour le protéger des ultrasons. • Porter des gants pour protéger les mains contre les effets chimiques des détergents.
Mélangeurs de cultures, agitateurs	Aérosols, projections et renversement de liquides	• Opérer dans une enceinte de sécurité biologique ou une enceinte de confinement primaire spécialement conçue. • Utiliser des flacons à culture solides munis d'un bouchon à vis et dont l'ouverture comporte un filtre solidement fixé, si nécessaire.
Lyophilisateurs	Aérosols et contamination par contact direct	• Utiliser des raccords circulaires permettant de maintenir l'appareil hermétiquement fermé. • Utiliser des filtres à air pour protéger le circuit de vide. • Utiliser une méthode satisfaisante pour la décontamination; par voie chimique par exemple. • Prévoir un piège à humidité entièrement métallique et un condenseur de vapeur.

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
		• Vérifier avec soin que les flacons de verre ne sont pas endommagés. N'employer que des flacons conçus spécialement pour utilisation sous vide.
Bains-marie	Prolifération de micro-organismes. L'azoture de sodium forme des composés explosifs avec certains métaux.	• Nettoyer et désinfecter régulièrement. • Ne pas utiliser d'azoture de sodium pour éviter la prolifération des germes.

Outre les risques microbiologiques, il faut également prévoir et éviter ceux que comportent les appareils et équipements utilisés. Le tableau A4-2 ci-dessous énumère quelques causes courantes d'accidents.

Tableau A4–2. ***Causes courantes d'accidents avec des appareils ou équipements***

ACCIDENT	CAUSE DE L'ACCIDENT	RÉDUCTION OU ÉLIMINATION DU RISQUE
Défaut de conception ou de construction		
Feu d'origine électrique dans un incubateur	Pas d'interrupteur de surcharge	• Respect des normes nationales.
Electrocution	Pas de mise à la terre	
Utilisation incorrecte		
Accident de centrifugeuse	Défaut d'équilibrage des pots à centrifuger sur les rotors à oscillation libre	• Former et encadrer le personnel.
Explosion d'un incubateur anaérobie		• Former et encadrer le personnel.
Equipement mal adapté		
Explosion dans une fiole à vide à usage domestique	Mauvaises conditions de transport de l'azote liquide	• Utiliser du matériel spécialement conçu.
Explosion dans un réfrigérateur à usage domestique	Produit chimique dangereux non placé dans un conteneur anti-étincelles et antidéflagrant, par exemple de l'éther éthylique dans un flacon dont le bouchon fuit	• Ne ranger les solvants et les extraits à bas point d'éclair que dans des réfrigérateurs ou des enceintes anti-étincelles et antidéflagrants.
Maintenance défecteuse		
Feu dans un photomètre à flamme	Mauvais remontage des pièces du photomètre pendant la maintenance	• Former et encadrer le personnel.

ANNEXE 5

Produits chimiques : dangers et précautions à prendre

On trouvera dans cette annexe les données de santé et de sécurité à connaître au sujet d'un certain nombre de produits chimiques couramment utilisés dans les laboratoires d'analyses biologiques et de recherche, accompagnées de quelques données générales et des précautions à observer.

Tableau A5-1. ***Produits chimiques : dangers et précautions à prendre***

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Acétaldéhyde CH_3CHO	Liquide ou gaz incolore à l'odeur piquante et fruitée; point de fusion –121°C, point d'ébullition 21°C.	Légèrement irritant pour les yeux et les voies respiratoires. Effets sur le système nerveux central, l'appareil respiratoire et le rein. Pourrait être cancérogène.	Extrêmement inflammable; les mélanges d'air et de vapeurs sont explosifs; point d'éclair –39°C, limites d'inflammabilité 4–57 %.	Pas de flammes nues ni d'étincelles, interdiction de fumer, éviter tout contact avec des surfaces chaudes. Conserver dans des récipients hermétiquement fermés entreposés à l'écart de produits oxydants; n'entreposer que si le produit est stabilisé. Utiliser dans une sorbonne ou dans de bonnes conditions de ventilation. Porter des gants de caoutchouc, des lunettes à coques et une protection respiratoire.	Peut donner naissance à des peroxydes par contact avec l'air. Peut se polymériser sous l'action des acides, de substances alcalines ou en présence de traces métalliques. Réducteur énergique : réagit violemment avec les oxydants, divers composés organiques, les halogènes, l'acide sulfurique et les amines.	

Acétate de thallium $TlC_2H_3O_2$	Cristaux blancs déliquescents; point de fusion 110°C, très soluble dans l'eau.	Extrêmement toxique en cas d'ingestion avec risque d'effets cumulatifs. Atteinte du système nerveux central et de l'appareil cardiovasculaire. Nocif en cas de contact oculaire ou cutané.		Tenir les récipients bien fermés; manipuler le solide sous une sorbonne ou une hotte avec dispositif d'évacuation des vapeurs. Porter des vêtements protecteurs ainsi qu'un masque antipoussières, des lunettes à coques pour laboratoire de chimie et des gants en caoutchouc ou en plastique.		
Acétone CH_3COCH_3	Liquide incolore à l'odeur douceâtre; point de fusion –95°C, point d'ébullition 56°C; miscible à l'eau.	Légèrement irritant pour les yeux, le nez et la gorge. L'inhalation peut provoquer des étourdissements, une narcose et le coma.	Très inflammable; point d'éclair –18°C; limites d'explosibilité 2,2–12,8 %.	Entreposer les récipients dans un endroit bien ventilé; tenir à distance de toute source d'ignition. Ne pas inhaler les vapeurs. Utiliser une protection respiratoire; porter une protection oculaire.	Réagit violemment avec les oxydants (par ex. l'acide chromique et l'acide nitrique) et avec le chloroforme en présence d'une base. Incompatible avec les mélanges d'acide sulfurique et d'acide nitrique concentrés.	Mettre à la terre les grands récipients ou conteneurs pour éviter les effets de l'électricité statique.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Acétonitrile CH_3CN	Liquide incolore à odeur aromatique; point de fusion –46°C, point d'ébullition 82°C.	Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. L'exposition peut provoquer des convulsions, la perte de conscience et une intoxication cyanurée.	Très inflammable; point d'éclair 12,8°C; limites d'explosibilité 3,0–16 %.	Pas de flammes nues ni d'étincelles; interdiction de fumer; éviter tout contact avec des oxydants. N'utiliser que dans des endroits situés à distance de toute source d'ignition. Entreposer dans des récipients hermétiquement fermés et séparément du lieu de stockage des oxydants. Travailler sous ventilation forcée. Eviter tout contact avec les muqueuses. Porter une protection respiratoire et des gants de caoutchouc.	Réagit avec les acides et les bases en solution aqueuse en dégageant des vapeurs toxiques. Réagit avec les oxydants énergiques. Attaque certains types de plastique, de caoutchouc et de revêtement. Se décompose par combustion en donnant naissance à du cyanure d'hydrogène et à des oxydes d'azote.	

Acétylène $CH \equiv CH$	Gaz incolore doté d'une légère odeur éthérée ou alliacée; transporté sous pression, en solution dans l'acétone; point de fusion –81°C; se sublime à –84°C.	Asphyxiant. Gelures en cas de contact avec la peau.	Extrêmement inflammable; limites d'inflammabilité 2,5–100 %.	Pour se protéger la peau, porter des gants isolants contre les gelures ainsi que des lunettes à coques ou un écran facial. Pas de flammes nues ni d'étincelles; interdiction de fumer. Travailler avec un dispositif local de ventilation forcée; les appareils électriques et l'éclairage doivent être antidéflagrants.	Réducteur énergique; réagit violemment avec les oxydants ainsi qu'avec le fluor et le chlore sous l'action de la lumière. Réagit avec le cuivre, le mercure ou leurs sels pour former des composés sensibles aux chocs.
Acide acétique CH_3CO_2H	Liquide incolore à l'odeur piquante; point de fusion 17°C, point d'ébullition 118°C; miscible à l'eau.	Corrosif; provoque de graves brûlures; vapeurs irritantes. Les effets peuvent être retardés.	Inflammable; point d'éclair 40°C, limites d'inflammabilité 5,4–16 %.	Ne pas inhaler les vapeurs. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau et consulter un médecin. Porter des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire.	Réaction violente, voire explosive avec les oxydants.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Acide chromique Oxyde de chrome VI Anhydride chromique CrO_3	Paillettes ou poudre inodores de couleur rouge foncé; souvent utilisé en solution aqueuse; point de fusion 197°C.	Irritant pour les yeux, la peau et les voies respiratoires. Un contact répété ou prolongé peut provoquer une dermite, des ulcères chromiques ou une sensibilisation cutanée. Risque de réactions asthmatiformes ou de perforation de la cloison nasale en cas d'inhalation. Cancérogène pour l'homme.	Décomposition à 250°C en oxyde chromique (oxyde de chrome III) et oxygène avec important risque d'incendie. De nombreuses réactions de ce composé sont dangereuses.	Eviter tout contact avec la peau et les yeux ainsi que l'inhalation de poussières fines et de brouillards. Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation ou une protection respiratoire.	La solution aqueuse est un acide fort corrosif qui réagit avec les bases. Oxydant énergique, réagit avec les matières combustibles, les composés organiques et autres matériaux facilement oxydables (papier, bois, soufre, aluminium, plastique, etc.). Corrode les métaux.	

Acide nitrique (50–70 %) HNO_3	Liquide fumant incolore à jaune pâle; point de fusion –42°C, point d'ébullition 83–121°C; miscible à l'eau.	Corrosif; cause de graves brûlures oculaires et cutanées. L'inhalation des vapeurs peut provoquer un œdème pulmonaire.	Oxydant; risque d'incendie en cas de contact avec des matières combustibles; dégagement de vapeurs toxiques en cas d'incendie.	Ne pas inhaler les vapeurs; porter une protection respiratoire. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin; en cas de contact cutané, laver immédiatement et ôter les vêtements contaminés. Porter des gants en PVC, un tablier en plastique et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie. Travailler sous une sorbonne.	Acide acétique, acide chromique, acide cyanhydrique, aniline, carbone, sulfure d'hydrogène, bases, métaux et de nombreuses autres substances.	Les réactions que l'acide nitrique concentré est susceptible de produire le rendent plus dangereux que tout autre produit chimique.
Acide oxalique HO_2CCO_2H	Cristaux incolores; soluble dans l'eau; point de fusion 190°C, avec décomposition.	Nocif en cas d'ingestion ou de contact avec la peau. La poussière est irritante pour les voies respiratoires et les yeux. Les solutions sont irritantes pour les yeux et peuvent causer des brûlures cutanées.	Combustible. En cas d'incendie, dégagement de vapeurs ou de gaz toxiques ou irritants.	Eviter tout contact avec la peau et les yeux; porter une protection oculaire et des gants.	Oxydants; argent, mercure et leurs dérivés.	

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Acide perchlorique $HClO_4$	Liquide incolore; miscible à l'eau.	Corrosif; cause de graves brûlures en cas d'ingestion ou de contact avec les yeux, la peau ou les voies respiratoires. L'inhalation peut provoquer un œdème pulmonaire.	Oxydant énergique. Incombustible mais facilite la combustion d'autres substances.	Eviter d'inhaler les vapeurs et toute autre forme d'exposition; porter des vêtements protecteurs ainsi que des gants en caoutchouc nitrile, ainsi qu'une protection oculaire ou un écran facial. Manipuler les solutions chaudes sous une sorbonne ou une hotte.	Matières combustibles et réducteurs; anhydride acétique, bismuth et alliages, alcool, métaux, papier, bois et autres matières organiques.	Oxydant énergique; peut former des produits explosifs en cas de contact avec des composés minéraux ou organiques; les planchers ou paillasses en bois souillés par de l'acide perchlorique peuvent exploser aux chocs.
Acide phosphorique H_3PO_4	Liquide visqueux incolore ou cristaux blancs hygroscopiques; point de fusion 42°C; se décompose en-dessous du point d'ébullition à 213°C; soluble dans l'eau.	Corrosif; cause des brûlures cutanées et oculaires.	Attaque de nombreux métaux avec dégagement d'hydrogène; dégagement de vapeurs toxiques en cas d'incendie.	En cas de contact avec les yeux, rincer avec de l'eau et consulter un médecin. Porter des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire.		

Acide picrique 2,4,6-trinitrophénol $C_6H_2(NO_2)_3OH$	Cristaux jaunes humidifiés avec de l'eau ou dissous dans l'alcool; point de fusion 122°C; légèrement soluble dans l'eau.	Toxique par ingestion, inhalation ou contact cutané. L'ingestion peut provoquer des céphalées et des nausées. Irritant pour les yeux.	Explosif à sec.	Doit toujours rester humide par adjonction d'eau ou à n'utiliser qu'en solution alcoolique.	Forme des sels avec de nombreux métaux qui sont plus explosifs que l'acide lui-même. En cas de contact avec du béton, risque de formation de picrate de calcium pouvant exploser par simple frottement. Peut réagir vigoureusement avec les réducteurs.	Colore la peau en jaune.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Acide sulfurique H_2SO_4	Liquide visqueux incolore et inodore; point de fusion 10°C, point d'ébullition 340°C (décomposition).	La solution concentrée (15 %) est corrosive et cause de graves brûlures; les aérosols et les vapeurs sont très corrosifs pour les voies respiratoires en cas d'inhalation; les solutions diluées sont irritantes pour les yeux et la peau; risque de brûlures et de dermite.	Peut dégager des vapeurs toxiques en cas d'incendie. De nombreuses réactions peuvent provoquer des incendies ou des explosions. La dilution dans l'eau dégage de la chaleur et il peut se produire des projections ou une ébullition du liquide. Toujours verser l'acide dans l'eau. **Ne jamais verser l'eau dans l'acide**.	En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin; en cas de contact cutané, laver immédiatement et ôter les vêtements contaminés. Porter des gants en caoutchouc nitrile ainsi qu'une protection oculaire ou faciale. **Eviter tout contact avec des matières inflammables**.	Oxydant et déshydratant énergique qui réagit violemment avec de nombreuses substances et notamment les dérivés organiques nitrés, le permanganate de potassium, les métaux alcalins et les perchlorates, les matières combustibles, les oxydants, les amines, les bases, l'eau, une chaleur excessive et la plupart des métaux.	Lorsque l'acide concentré est versé dans l'eau, risque d'ébullition au point de versement.

Acide trichloracétique CCl_3COOH	Cristaux blancs hygroscopiques à l'odeur piquante; point de fusion 58°C, point d'ébullition 197,5°C; soluble dans l'eau, l'éthanol et l'éther éthylique.	Corrosif; cause de graves brûlures des yeux, de la peau et des voies respiratoires.	Incombustible. Peut dégager des vapeurs toxiques en cas d'incendie.	Eviter tout contact avec les yeux ou la peau; porter des gants en caoutchouc ou en plastique et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie ou un écran facial ainsi qu'une protection respiratoire. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin.	Réaction violente avec les mélanges de cuivre et de diméthylsulfoxyde ainsi qu'en présence de bases, d'oxydants énergiques et de métaux comme le fer, le zinc ou l'aluminium.	Entreposer dans un endroit sec. Les solutions aqueuses concentrées peuvent subir une décomposition violente.
Acroléine $CH_2{=}CHCHO$	Liquide incolore à jaune doté d'une odeur pénétrante désagréable; point de fusion –87°C, point d'ébullition 53°C.	Larmoiement. Fortement irritant pour les voies respiratoires; œdème pulmonaire en cas d'exposition intense. Les effets peuvent être retardés.	Très inflammable; point d'éclair –26°C; limites d'explosibilité 2,8–31 %.	Eviter tout contact avec la peau et les yeux. Travailler sous une sorbonne ou avec une bonne ventilation.	Oxydants, acides, bases alcalines, ammoniac, amines. En l'absence d'inhibiteur (généralement de l'hydroquinone), se polymérise spontanément. Peut former au cours du temps des peroxydes sensibles aux chocs.	

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Ammoniac et solutions	Liquide incolore doté d'une odeur piquante; gaz ammoniac : point de fusion –78°C, point d'ébullition –33°C; solution à 25 % : point de fusion –58°C, point d'ébullition 38°C; miscible à l'eau.	Corrosif pour les yeux, les voies respiratoires, la peau et les voies digestives en cas d'ingestion; œdème pulmonaire en cas d'exposition intense au gaz ou aux vapeurs.	Gaz ammoniac : limites d'inflammabilité 15–28 %	Tenir les récipients bien fermés. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin. Travailler sous sorbonne. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie.	Réagit violemment avec les métaux lourds tels que le mercure et leurs sels pour former des composés explosifs.	
Anhydride acétique $(CH_3CO)_2O$	Liquide incolore à l'odeur forte et âcre de vinaigre; point de fusion –73°C, point d'ébullition 139°C.	Extrêmement irritant pour les yeux et les voies respiratoires supérieures; action corrosive. Les effets peuvent être retardés.	Inflammable; dégage des vapeurs ou des gaz irritants ou toxiques en cas d'incendie; point d'éclair 49°C, limites d'explosibilité 2,7–10,3 %.	Pas de flammes nues ni d'étincelles, interdiction de fumer. Eviter tout contact avec les yeux ou la peau.	Réagit violemment avec l'eau bouillante, la vapeur d'eau, les oxydants énergiques, les alcools, les amines, les bases fortes et de nombreux autres composés. Attaque de nombreux métaux en présence d'eau.	

Aniline $C_6H_5NH_2$	Liquide huileux incolore à brun doté d'une odeur aminée aromatique; point de fusion –6°C, point d'ébullition 185°C.	Cyanose méthémoglobinémique. Irritant pour les yeux et la peau. Peut traverser la barrière cutanée; des expositions répétées peuvent provoquer une sensibilisation.	Combustible; point d'éclair 70°C, limites d'explosibilité 1,2–11 %	Conserver dans des récipients hermétiquement fermés, séparément des oxydants. Eviter tout contact avec la peau ou les yeux. Travailler sous ventilation forcée locale ou avec une protection respiratoire, porter des gants et des vêtements de protection ainsi qu'un écran facial.	Oxydants énergiques et acides forts.
Argent Ag	Métal blanc, s'assombrissant par exposition à l'ozone, au sulfure d'hydrogène ou au soufre; point de fusion 962°C, point d'ébullition 2212°C.	L'inhalation d'une quantité importante de vapeurs d'argent peut causer des lésions et un œdème pulmonaires. Il peut y avoir coloration gris-bleu des yeux, du nez, de la gorge et de la peau en cas d'exposition prolongée ou répétée (argyrie).	Incombustible, sauf sous forme pulvérulente.	Travailler avec un dispositif local d'évacuation des vapeurs. Porter des gants et des lunettes de sécurité ou un masque respiratoire complet pour se protéger des vapeurs et de la poussière d'argent.	Incompatible avec l'acétylène, les sels d'ammonium, l'acide oxalique et l'acide tartrique.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Auramine 4,4′-carbonoimidoylbis (*N*,*N*-diméthylbenzamine)	Paillettes ou poudre jaunes; point de fusion 136°C; insoluble dans l'eau.	Effets nocifs en cas d'ingestion, d'inhalation ou de contact avec la peau. Peut provoquer une irritation cutanée. Pourrait être cancérogène.		Eviter tout contact avec la peau; ne pas inhaler la poussière. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie. Travailler sous sorbonne ou porter un masque antipoussières.	Oxydants énergiques.	
Azoture de sodium N_3Na	Solide cristallin incolore; point de fusion 300°C, soluble dans l'eau.	Très toxique en cas d'ingestion, d'inhalation ou de contact cutané; peut causer des brûlures. La poussière et la solution sont irritantes pour les yeux et la peau; peut traverser la barrière cutanée.	Se décompose de manière explosive par chauffage au-dessus du point de fusion. Le chauffage provoque un dégagement de vapeurs toxiques; ne pas utiliser d'eau pour éteindre un feu.	En cas de contact avec la peau, laver immédiatement. Ne pas inhaler la poussière. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique ainsi qu'une protection oculaire.	Réaction explosive avec le brome, le sulfure de carbone et le chlorure de chromyle. Réaction à l'état solide avec les métaux lourds comme le cuivre, le plomb et le mercure pour former des azotures explosifs. En présence d'un acide, dégagement de gaz très toxiques et explosifs.	

Benzène C_6H_6	Liquide volatil incolore dégageant une odeur aromatique caractéristique; point de fusion 6°C, point d'ébullition 80°C.	L'inhalation des vapeurs entraîne des effets neurologiques centraux se traduisant par des vertiges et des céphalées; à forte concentration, il y a perte de conscience pouvant aboutir à la mort. Risque d'anémie aplasique, de leucémie, de lésions hépatiques en cas d'exposition prolongée ou chronique. Peut traverser la barrière cutanée.	Très inflammable, point d'éclair –11°C, limites d'inflammabilité 1,3–8 %.	Conserver les récipients dans un endroit bien ventilé et à distance de toute source d'ignition. Travailler sous sorbonne ou sous une hotte correctement ventilée. Porter une protection oculaire ainsi que des gants en caoutchouc nitrile ou en PVC. Eviter la formation de charges électriques par mise à la terre.	Peut réagir violemment avec les oxydants comme d'acide chromique, le permanganate de potassium et l'oxygène liquide.
Benzidine 1,1′-biphényl-4,4′-diamine	Poudre jaune clair, point de fusion 128°C, point d'ébullition 400°C, légèrement soluble dans l'eau mais très soluble dans les acides et les solvants organiques.	Peut traverser la barrière cutanée. Risque de cancer de la vessie. Eviter toute exposition.	Combustible, dégagement de vapeurs ou de gaz toxiques en cas d'incendie.	Eviter toute exposition. Porter une protection oculaire et cutanée. Travailler sous sorbonne avec ventilation forcée.	Usage interdit ou réglementé dans de nombreux pays.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Brome Br_2	Liquide fumant de couleur brun-rouge foncé, dégageant une odeur âcre; point de fusion –7,2°C, point d'ébullition 58,8°C.	Corrosif. Les vapeurs sont corrosives pour les yeux et les voies respiratoires; l'inhalation peut provoquer un œdème pulmonaire et des effets neurologiques centraux. Le contact avec les yeux peut rendre la vision trouble, provoquer rougeurs et douleurs et entraîner de graves brûlures tissulaires.	Non combustible, mais facilite la combustion d'autres substances. Donne lieu à de nombreuses réactions pouvant provoquer incendies et explosions. Le chauffage peut provoquer une augmentation de la pression avec risques de brûlures.	A utiliser en vase clos et sous ventilation. Porter des gants et des vêtements protecteurs, des lunettes à coques, un écran facial ou un masque respiratoire complet.	Oxydant énergique; réagit violemment avec les matériaux combustibles et réducteurs. Réagit violemment avec l'ammoniaque, les oxydants, les métaux, les composés organiques et le phosphore.	Attaque certains types de plastique, de caoutchouc et de revêtements.

Bromure de cyanogène BrCN	Cristaux incolores ou blancs dotés d'une odeur piquante; point de fusion 52°C, point d'ébulllition 61°C.	Très irritant pour les yeux, la peau et les voies respiratoires; l'inhalation des vapeurs peut provoquer un œdème pulmonaire susceptible d'entraîner des convulsions, une perte de conscience, une insuffisance respiratoire et la mort.	Non combustible, mais donne naissance par chauffage à un gaz inflammable. En cas d'incendie, dégagement de vapeurs ou de gaz irritants et toxiques.	Travailler en vase clos et sous ventilation. Porter des gants et des vêtements protecteurs, des lunettes à coques, un écran facial ou un masque respiratoire complet.	Décomposition par chauffage ou contact avec des acides avec dégagement de cyanure d'hydrogène très toxique et inflammable et de bromure d'hydrogène corrosif. Réagit avec les oxydants énergiques. Lente réaction avec l'eau ou en présence d'humidité pour donner du bromure et du cyanure d'hydrogène. Attaque de nombreux métaux en présence d'eau.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Chlore Cl_2	Gaz jaune verdâtre à l'odeur âcre; point de fusion –101°C, point d'ébullition –34°C.	Corrosif pour les yeux, la peau et les voies respiratoires. L'inhalation du gaz peut provoquer une pneumonie et un œdème pulmonaire, avec pour conséquence une dysfonction réactive des voies aériennes. L'évaporation rapide du liquide peut entraîner des gelures. L'exposition à une forte concentration peut entraîner la mort. Possibilité d'effets retardés; la mise en observation médicale est indiquée.	Non combustible, mais facilite la combustion d'autres substances.	Travailler en vase clos sous ventilation. Porter des gants isolants, des vêtements protecteurs, des lunettes de protection à coques ou un masque respiratoire complet.	La solution aqueuse est un acide fort, réagit violemment avec les bases et de nombreux composés organiques, l'acétylène, le butadiène, le benzène et différents autres produits pétroliers, l'ammoniac, l'hydrogène, le carbure de sodium, la thérébentine et les métaux finement divisés avec risque d'incendie et d'explosion.	Attaque de nombreux métaux en présence d'eau. Attaque les plastiques, le caoutchouc et les revêtements.

Chloroforme $CHCl_3$	Liquide volatil incolore à l’odeur caractéristique; point de fusion –63°C, point d’ébullition 61°C; légèrement soluble dans l’eau.	Nocif en cas d’inhalation, d’ingestion ou de contact avec la peau. Peut avoir des effets hépatiques, rénaux ou neurologiques centraux se traduisant par des céphalées, de la nausée, un léger ictère, une perte d’appétit et une narcose. Une exposition prolongée provoque l’apparition de cancers chez l’animal; pourrait être cancérogène pour l’homme.		Porter des vêtements protecteurs, des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire. Travailler sous sorbonne.	Bases fortes; certains métaux comme l’aluminium et le magnésium, la poudre de zinc; les oxydants énergiques.	Par chauffage, se décompose en formant du phosgène. Attaque les plastiques et le caoutchouc.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Chlorure d'hydrogène HCl Acide hydrochlorique (10–37 %)	Liquide fumant incolore à l'odeur piquante; point d'ébullition –121°C; miscible à l'eau.	Corrosif pour les yeux, les voies respiratoires et la peau; l'inhalation répétée des vapeurs peut causer une bronchite chronique.		Ne pas inhaler les vapeurs; porter une protection respiratoire. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau et consulter un médecin; en cas de contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. Travailler sous une sorbonne. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et une protection oculaire (lunettes de sécurité ou lunettes à coques).	Réagit violemment avec les bases (solides et solutions concentrées) et de manière explosive avec le permanganate de potassium solide. Dégagement de gaz toxiques ou explosifs en présence de nombreux métaux.	Dégagement de vapeurs très toxiques en cas d'incendie.

Cuivre Cu	Solide rougeâtre, inodore, brillant et malléable; poudre rouge, vire au vert par exposition à l'air humide; point de fusion 1083°C, point d'ébullition 2567°C.	L'inhalation de vapeurs de cuivre peut causer la fièvre des fondeurs.	Combustible.	Travailler avec un dispositif local d'évacuation ou une protection respiratoire, des gants et des lunettes à coques.	Des composés sensibles aux chocs se forment avec les dérivés acétyléniques, l'oxyde d'éthylène, les azotures et le peroxyde d'hydrogène. Réagit avec les oxydants énergiques et les chlorates, bromates et iodates avec risque d'explosion.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Cyanure de sodium NaCN	Poudre cristalline blanche dégageant une odeur d'amande amère; point de fusion 563°C, point d'ébullition 1496°C; très soluble dans l'eau.	Extrêmement toxique en cas d'ingestion, d'inhalation ou de contact cutané; fortement irritant pour les yeux. Peut traverser la barrière cutanée. Atteinte thyroïdienne possible en cas d'exposition répétée.	Peut donner lieu à un dégagement de vapeurs toxiques en cas d'incendie.	Eviter d'inhaler la poussière; porter une protection respiratoire. Eviter tout contact avec les yeux et la peau; en cas de contact cutané, laver immédiatement avec de l'eau et ôter les vêtements contaminés. Porter des lunettes à coques pour laboratoire de chimie ainsi que des gants en caoutchouc ou en plastique. Entreposer dans un local ventilé et fermé à clé.	En présence d'acides ou d'eau contenant du dioxyde de carbone dissous, dégagement de cyanure d'hydrogène gazeux (HCN) extrêmement toxique. Peut former des mélanges explosifs avec les nitrites.	En cas de déversement, traiter la zone touchée avec de l'hypochlorite de sodium en poudre et laisser reposer 24h. Balayer soigneuse-ment les débris solides et les déverser dans de l'eau additionnée d'hypochlorite; laisser reposer 24 h avant de jeter. Le laboratoire doit disposer d'un nécessaire pour le traitement des empoisonne-ments par le cyanure.

Cytochalasine (A-J)	Poudre blanche; point de fusion variable.	Toxique en cas d'ingestion, d'inhalation ou de résorption cutanée. Peut causer des malformations congénitales.		Eviter le contact avec les yeux, la peau ou les vêtements; porter des lunettes à coques pour laboratoire de chimie ainsi que des gants en caoutchouc ou en plastique.	Oxydants énergiques.
Diméthylamine $(CH_3)_2NH$	Gaz liquéfié volatil doté d'une odeur pénétrante; point de fusion –93°C, point d'ébullition 7°C; miscible à l'eau.	Très irritant pour les yeux et les voies respiratoires. L'inhalation peut provoquer un œdème pulmonaire. L'évaporation rapide peut causer des gelures. La solution est corrosive pour les yeux et la peau.	Extrêmement inflammable; point d'éclair –26°C; limites d'inflammabilité 2,8–14 %. La solution est très inflammable; point d'éclair –18°C.	Tenir à distance de toute source d'ignition; en cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin. Travailler sous sorbonne. Porter des gants en caoutchouc nitrile et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie.	Peut réagir avec les oxydants et le mercure.
2,4-dinitrophénylhydrazine 1-Hydrazino-2,4-dinitrobenzène $C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$	Poudre cristalline rouge orangé; (point de fusion 200°C; légèrement soluble dans l'eau.)	Irritant pour la peau et les yeux. Nocif en cas d'ingestion, d'inhalation ou de contact cutané.		Maintenir humide pour réduire le risque d'explosion. Porter un masque antipoussières, des gants en caoutchouc ou en plastique et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie.	Peut réagir vigoureusement avec les oxydants et les réducteurs.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Dioxane Dioxyde de diéthylène $C_4H_8O_2$	Liquide incolore à l'odeur caractéristique; point de fusion 12°C, point d'ébullition 101°C.	Irritant pour les yeux et les voies respiratoires. L'atteinte du système nerveux central peut se traduire par des céphalées, des nausées, de la toux, des maux de gorge, des douleurs abdominales, des vertiges, de la somnolence, des vomissements et une perte de conscience. Peut traverser la barrière cutanée. Lésions rénales et hépatiques. Probablement cancérogène pour l'homme.	Très inflammable; inflammation à distance possible; l'écoulement, l'agitation, etc. peuvent entraîner la formation de charges d'électricité statique.	Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation. Pas de flammes nues ni d'étincelles, interdiction de fumer et éviter tout contact avec des oxydants énergiques ou des surfaces chaudes. Ne pas utiliser d'air comprimé pour le remplissage, la vidange ou la manipulation; utiliser des outils anti-étincelles. Porter des gants et des vêtements protecteurs, un écran facial ou un masque respiratoire complet.	Peut former des peroxydes explosifs. Réagit vigoureusement avec les oxydants énergiques et les acides forts concentrés. Réaction explosive en présence de certains catalyseurs. Attaque de nombreux plastiques.	
Dioxyde de carbone (solide; « carboglace ») CO_2	Solide blanc translucide à –79°C; se sublime à la température ambiante.	Risque d'asphyxie dans les locaux confinés ou mal ventilés; le contact avec la carboglace provoque des gelures.		Porter des gants protecteurs isolants. N'entreposer que dans une pièce ventilée ou dans un récipient ouvert.	Métaux alcalins, bases fortes.	

Dioxyde de chlore ClO_2	Gaz jaune à rouge ou liquide rouge brun; point de fusion –59°C, point d'ébullition 10°C.	Fortement irritant pour les yeux, la peau et les voies respiratoires. L'inhalation du gaz peut provoquer un œdème pulmonaire. Possibilité d'effets retardés; la mise en observation médicale est indiquée.	Non combustible, mais facilite la combustion d'autres substances, peut exploser par chauffage, exposition à la lumière solaire, en cas de chocs ou en présence d'étincelles.	Travailler en vase clos sous ventilation. Porter des gants et des vêtements protecteurs, des lunettes de sécurité à coques ou un masque respiratoire complet.	Oxydant énergique; réagit violemment avec les combustibles et les réducteurs, le phosphore, l'hydroxyde de potassium, le soufre, l'ammoniac, le méthane, la phosphine et le sulfure d'hydrogène.
Ethanol CH_3CH_2OH	Liquide volatil incolore doté d'une odeur légère et caractéristique; point de fusion –117°C, point d'ébullition 79°C; miscible à l'eau.	Nocif en cas d'ingestion. Irritant pour les yeux. Peut provoquer des troubles neurologiques centraux.	Très inflammable; point d'éclair 12°C, limites d'inflammabilité 3–19 %.	Tenir les récipients bien fermés et à distance de toute source d'ignition.	Réagit violemment avec les oxydants énergiques.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Ethanolamine 2-aminoéthanol $H_2NCH_2CH_2OH$	Liquide incolore, visqueux et non volatil dégageant une odeur ammoniacale; point de fusion 10°C, point d'ébullition 171°C; miscible à l'eau.	Corrosif pour les yeux, les voies respiratoires et la peau; peut provoquer une sensibilisation cutanée.	Point d'éclair 85°C.	Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et une protection oculaire.	Réagit avec les oxydants énergiques.	

Ether éthylique Diéthyléther $C_2H_5OC_2H_5$	Liquide incolore et très volatil à l'odeur sucrée caractéristique; point de fusion –116°C, point d'ébullition 34°C; légèrement soluble dans l'eau.	Irritant pour les yeux et les voies respiratoires. Son action sur le système nerveux central peut entraîner une somnolence et une perte de conscience. Effet addictif possible en cas d'exposition répétée.	Extrêmement inflammable; point d'éclair –45°C, limites d'inflammabilité 1,7–48 %.	Entreposer les récipients dans un endroit bien ventilé; tenir à distance de toute source d'ignition; mettre les récipients à la terre pour éviter les décharges d'électricité statique. Travailler sous sorbonne. Porter des gants en caoutchouc nitrile pour éviter la délipidation de la peau.	L'exposition à l'air et à la lumière peut conduire à la formation de peroxydes explosifs. Peut réagir violemment avec les oxydants et les halogènes.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Formaldéhyde en solution (37–41 % de formaldéhyde avec 11–14 % de méthanol) HCHO	Liquide incolore à l'odeur piquante; point d'ébullition 96°C; miscible à l'eau.	Fortement irritant pour les yeux et la peau, irritant pour les voies respiratoires; une exposition prolongée aux vapeurs peut provoquer des symptômes asthmatiformes, une conjonctivite, une laryngite, une bronchite ou une bronchopneumonie. Peut entraîner une sensibilisation par contact cutané. Risque d'effets nocifs irréversibles. Pourrait être cancérogène.	Point d'éclair 50°C.	Se protéger par le port d'un tablier en plastique, de gants en caoutchouc ou en plastique et de lunettes à coques pour laboratoire de chimie. Travailler sous une sorbonne ou dans un endroit bien ventilé.	Peut réagir vigoureusement avec les oxydants et le nitrométhane pour donner des produits explosifs ainsi qu'avec l'acide chlorhydrique pour former un cancérogène puissant, le bis(chlorométhyl) éther.	Les solutions concentrées de formaldéhyde se troublent si on les conserve à moins de 21°C; elles doivent donc être conservées entre 21 et 25°C. Les solutions diluées (1–5 %) et moyennement concentrées (5–25 %) présentent à peu près autant de risques que les solutions concentrées.

Glutaraldéhyde $OHC(CH_2)_3CHO$	Solution incolore à jaune pâle à l'odeur pénétrante; point de fusion –14°C, point d'ébullition 189°C; miscible à l'eau.	Fortement irritant pour les yeux et les voies respiratoires supérieures; une exposition prolongée par la voie respiratoire ou des contacts cutanés peuvent entraîner une sensibilisation.		Travailler sous une sorbonne ou dans un endroit bien ventilé. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et une protection oculaire.	Peut réagir vigoureusement avec les oxydants.	Souvent livré en solutions aqueuses de concentration variable contenant un additif pour améliorer la stabilité.
Hydrosélénite de sodium Bisélénite de sodium $NaHSeO_3$	Poudre cristalline incolore ou blanche; soluble dans l'eau.	Toxique en cas d'ingestion ou d'inhalation de la poussière; risque d'effets cumulatifs. L'expérimentation a révélé des effets tératogènes. Un contact cutané prolongé peut provoquer une dermite.		Porter des vêtements protecteurs.	Oxydants.	

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Hydroxyde de potassium Potasse KOH	Paillettes, poudre, pastilles ou bâtonnets de couleur blanche; point de fusion 360°C, point d'ébullition 1320°C; très soluble dans l'eau.	Corrosif pour les voies respiratoires, les yeux et la peau; l'inhalation de la poussière provoque un œdème pulmonaire.		En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau et consulter un médecin; en cas de contact avec la peau, laver immédiatement et ôter les vêtements contaminés. Porter des gants et une protection oculaire, même pour manipuler les solutions, même diluées.	Réagit violemment avec les acides et le nitrobenzène et de nombreux détergents. Important dégagement de chaleur par mixtion avec l'eau; conserver dans des récipients bien fermés.	Attaque un certain nombre de métaux (aluminium, étain, zinc) en présence d'humidité.
Hydroxyde de sodium Soude NaOH	Paillettes, poudre, pastilles ou bâtonnets incolores; point de fusion 318°C, point d'ébullition 1390°C; soluble dans l'eau.	Très dangereux en cas d'ingestion ou de contact oculaire et cutané avec le produit solide ou une solution concentrée. L'inhalation de la poussière peut provoquer des lésions des voies respiratoires et un œdème pulmonaire. Les solutions diluées sont irritantes pour les yeux et peuvent provoquer de graves lésions en cas de contact oculaire prolongé.	Incombustible. En présence d'eau ou d'humidité, la chaleur dégagée peut être suffisante pour enflammer des matières combustibles.	En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin; en cas de contact avec la peau, laver immédiatement avec de l'eau et ôter les vêtements contaminés. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et une protection oculaire, même pour manipuler des solutions diluées.	Important dégagement de chaleur lors du mélange avec de l'eau. Réagit vigoureusement avec les mélanges chloroforme-méthanol et avec les acides forts.	Conserver au sec dans des récipients bien fermés.

Hypochlorite de sodium (solution à 10–14 % de chlore libre) NaOCl	Solution incolore à jaune pâle dégageant une odeur de chlore; miscible à l'eau.	Corrosif pour les yeux, la peau, les voies digestives et respiratoires; l'inhalation peut provoquer un œdème pulmonaire. Une exposition répétée peut entraîner une sensibilisation cutanée.	Oxydant énergique. Risque de dégagement de vapeurs toxiques en cas d'incendie.	En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau et consulter un médecin; en cas de contact cutané, laver immédiatement avec de l'eau. Eviter d'inhaler les vapeurs; porter une protection respiratoire. Travailler dans un endroit bien ventilé. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et une protection oculaire pour laboratoire de chimie.	Dégagement de gaz très toxiques en présence d'acides. Peut réagir vigoureusement avec les matières combustibles et les réducteurs. Peut réagir avec les dérivés azotés pour former des composés *N*-chlorés explosifs; risque de réaction violente avec le méthanol.	Les émanations de chlore pendant le stockage réduisent la teneur en chlore actif; les solutions diluées utilisées comme désinfectants se déteriorent rapidement. Conserver à distance des acides, à l'abri de la lumière et au frais dans un local bien ventilé.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Iode I_2	Paillettes cristallisées de couleur noire bleuâtre dégageant une odeur caractéristique; point de fusion 114°C, point d'ébullition 184°C; pratiquement insoluble dans l'eau.	Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. Une exposition répétée peut provoquer une sensibilisation cutanée. Des effets sont possibles sur la thyroïde.	Non combustible, mais facilite la combustion d'autres substances. De nombreuses réactions peuvent provoquer des incendies ou des explosions. En cas d'incendie, dégagement de vapeurs ou de gaz irritants ou toxiques.	Ne pas inhaler les vapeurs; éviter tout contact avec les yeux. Porter des gants en caoutchouc nitrile.	Réagit violemment avec les métaux, et notamment l'aluminium, le potassium et le sodium, ainsi qu'avec les mélanges éthanol/phosphore, l'acétylène et l'ammoniac.	

Mercure Hg	Liquide argenté très dense; point de fusion –39°C, point d'ébullition 357°C; insoluble dans l'eau.	Peut traverser la barrière cutanée. Une exposition répétée peut avoir des effets nocifs sur les reins et le système nerveux central; elle peut provoquer des vomissements, de la diarrhée, des céphalées, des nausées, un gonflement gingival et un déchaussement des dents.	Non combustible. Dégagement de vapeurs irritantes ou toxiques en cas d'incendie.	Tenir les récipients bien fermés. Travailler sous une sorbonne ou dans un endroit bien ventilé. S'efforcer d'éviter les renversements accidentels. Observer une hygiène rigoureuse. Porter des gants en caoutchouc nitrile.	Acétylène, acide fulminique. Réagit avec l'ammoniac, les azotures et l'oxyde d'éthylène pour former des composés explosifs. Réagit violemment avec le brome. Forme des amalgames avec de nombreux métaux.	Ranger les récipients et travailler au-dessus de plateaux à rebords pour éviter que le métal ne se répande; aspirer les gouttelettes fragmentées à l'aide d'une petite fiole à vide munie d'un capillaire et reliée à une pompe; traiter les endroits où du mercure s'est répandu avec de la poudre de zinc pour former un amalgame.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Méthanol CH_3OH	Liquide volatil incolore doté d'une odeur caractéristique; point de fusion –98°C, point d'ébullition 65°C; miscible à l'eau.	Effets sur le système nerveux central entraînant une perte de conscience; irritation des muqueuses. Une exposition chronique peut provoquer des lésions de la rétine et du nerf optique. Un contact prolongé avec la peau peut provoquer une dermite. Peut traverser la barrière cutanée.	Très inflammable; point d'éclair –16°C; limites d'inflammabilité 7–37 %.	Tenir les récipients bien fermés et à distance de toute source d'ignition. Eviter d'inhaler les vapeurs et tout contact avec la peau. Travailler sous une sorbonne ou dans un endroit bien ventilé. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et une protection oculaire.	Peut réagir vigoureusement avec les oxydants. Avec le magnésium ou le brome, la réaction peut également être violente et prendre une allure explosive avec les oxydants énergiques et le chloroforme.	
Naphtylamine (alpha et bêta) *N*-phényl-α-naphtylamine et *N*-phényl-β-naphtylamine $C_{10}H_9N$	Cristaux de couleur blanche à rose dotés d'une odeur caractéristique; alpha : point de fusion 50°C, point d'ébullition 301°C; bêta : point de fusion 113°C, point d'ébullition 306°C; peu soluble dans l'eau, mais le chlorhydrate est soluble.	Les deux isomères sont très toxiques par inhalation, ingestion et contact cutané. Ils provoquent chez l'homme des cancers de la vessie. L'expérience révèle des propriétés mutagènes et tératogènes. Traversent la barrière cutanée.	Combustible.	Eviter toute exposition; porter des vêtements protecteurs appropriés. Travailler sous une sorbonne ou une hotte ou avec un dispositif d'évacuation des vapeurs.		Usage interdit ou réglementé par la loi dans de nombreux pays.

Ninhydrine $C_9H_6O_4$	Solide jaune pâle qui se décompose avant fusion à 241°C. Livré en bombes aérosol sous forme de solution à 0,5 % dans le butanol; soluble dans l'eau.	Nocif par ingestion ou inhalation. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. Une exposition répétée peut provoquer une sensibilisation cutanée.	Solide inflammable et combustible; point d'éclair 39°C.	Eviter d'inhaler l'aérosol ou les vapeurs; éviter également tout contact avec les yeux. Porter des gants en caoutchouc ou en plastique et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie.		Coloration violette persistante de la peau en cas de contact.
Nitrate d'argent $AgNO_3$	Cristaux blancs, point de fusion 212°C, point d'ébullition 444°C; soluble dans l'eau.	Peut causer une forte irritation et de graves brûlures oculaires et cutanées. Corrosif en cas d'ingestion. Peut provoquer une coloration bleuâtre de la peau en cas d'exposition prolongée ou répétée (argyrie).	Incombustible, mais facilite la combustion d'autres substances.	Eviter la dispersion de la poussière. Observer une hygiène rigoureuse. Porter des gants protecteurs en caoutchouc ou en plastique et un écran facial ou encore un masque respiratoire complet. En cas de contact avec les yeux, rincer à l'eau et consulter un médecin.	Les solutions ammoniacales peuvent former un précipité de nitrite d'argent en présence de base ou de glucose. Possibilité de formation de produits explosifs en présence d'éthanol ou de polymérisation explosive de l'acrylonitrile. Risque d'inflammation ou d'explosion par mélange avec du charbon de bois, du magnésium, du phosphore ou du soufre.	

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Nitrobenzène $C_6H_5NO_2$	Liquide huileux de couleur jaune pâle dégageant une odeur caractéristique; point de fusion 6°C, point d'ébullition 211°C.	Méthémoglobinémie accompagnée de cyanose, lésions hépatiques; symptômes : les lèvres, les ongles et la peau prennent une couleur bleue; étourdissements, nausées, faiblesse, perte de conscience. Peut traverser la barrière cutanée.	Combustible; risque d'incendie et d'explosion; point d'éclair 88°C.	Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation ou une protection respiratoire. Porter des gants et des vêtements protecteurs ainsi que des lunettes à coques.	La combustion dégage des vapeurs corrosives et notamment des oxydes d'azote. Réagit violemment avec les oxydants énergiques et les réducteurs, avec risque d'incendie et d'explosion. Attaque de nombreux plastiques. Forme des produits ou des mélanges explosifs (thermiquement instables) avec de nombreux composés minéraux.	

Oxygène O_2	Gaz incolore comprimé; point de fusion –218,4°C, point d'ébullition –183°C.	Irritant pour les voies respiratoires à très forte concentration.	Incombustible, mais facilite la combustion d'autres substances. Le chauffage fait monter la pression dans la bouteille avec risque d'éclatement.	Pas de flammes nues ni d'étincelles, interdiction de fumer, éviter tout contact avec des matières inflammables.	Oxydant énergique qui réagit sur les matières combustibles et les réducteurs avec risque d'incendie et d'explosion. Réagit avec les huiles, les graisses, l'hydrogène et les gaz, liquides et solides inflammables.
Pentoxyde de phosphore P_2O_5	Cristaux hygroscopiques ou poudre de couleur blanche; point de fusion 340°C, point de sublimation 360°C.	Son action corrosive sur la peau, les yeux et les voies respiratoires provoque des maux de gorge, de la toux, une sensation de brûlure et un essouflement; risque de brûlures cutanées douloureuses avec phlyctènes et des brûlures oculaires. L'inhalation des vapeurs peut entraîner un œdème pulmonaire. L'ingestion peut provoquer des douleurs abdominales, une sensation de brûlure, de la diarrhée, des douleurs laryngées et des vomissements.	Incombustible, mais facilite la combustion d'autres substances. Nombreuses réactions susceptibles de provoquer un incendie ou une explosion. Dégagement de vapeurs ou de gaz irritants ou toxiques en cas d'incendie.	Travailler avec un dispositif local d'évacuation des vapeurs. Porter des gants et des vêtements protecteurs, un écran facial ou un masque respiratoire complet. Ne pas manger, boire ou fumer pendant le travail.	La solution aqueuse est un acide fort; réagit violemment avec les bases; corrosif. Réagit violemment avec l'acide perchlorique avec risque d'incendie ou d'explosion. Réagit violemment avec l'eau pour donner de l'acide phosphorique. Attaque de nombreux métaux en présence d'eau.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Permanganate de potassium $KMnO_4$	Cristaux violets; point de fusion 240°C (décomposition); facilement soluble dans l'eau.	Corrosif en cas d'ingestion ou d'inhalation de la poussière. Extrêmement irritant pour les yeux et les voies respiratoires; l'inhalation de la poussière peut provoquer un œdème pulmonaire.	Oxydant énergique; risque d'inflammation des matières combustibles.	Porter des vêtements protecteurs et une protection oculaire, ainsi qu'un masque muni d'un filtre à particules s'il y a production de poussière.	Réagit de manière violente voire explosive en présence de nombreux composés minéraux ou organiques ou encore de métaux pulvérulents.	
Peroxyde d'hydrogène Perhydrol H_2O_2	Liquide incolore; point de fusion –39°C (70 %), point d'ébullition 125°C (70 %); miscible à l'eau; livré en solution aqueuse de concentration variable.	Corrosif à forte concentration (60 %) et également à faible concentration (6 %) en cas de contact prolongé avec la peau. Les solutions diluées sont irritantes pour les yeux, les voies respiratoires et la peau.	Oxydant; risque d'incendie en cas de contact avec des matières combustibles.	En cas de contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. Porter des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire si la concentration dépasse 20%.	Réagit vigoureusement avec diverses substances chimiques et notamment les oxydants et les bases. Attaque la plupart des métaux ou leurs sels, les liquides inflammables et autres matières combustibles (papier, textiles), l'aniline et le nitrométhane.	Peut se décomposer en dégageant de l'oxygène, ce qui augmente la pression dans le récipient. Entreposer dans un endroit frais à l'abri de la lumière. Ne pas utiliser de récipients ou d'équipements métalliques, par ex. en laiton, cuivre ou fer.

Phénol C_6H_5OH	Cristaux incolores ou rose pâle dégageant une odeur caractéristique; point de fusion 41°C, point d'ébullition 182°C; soluble dans l'eau.	Le solide et ses vapeurs sont corrosifs pour les yeux, la peau et les voies respiratoires; ils peuvent causer de graves brûlures. Peut traverser la barrière cutanée. Troubles du système nerveux central pouvant aboutir au coma. Lésions rénales et hépatiques. Symptômes : douleurs abdominales, vomissements, diarrhées, irritation cutanée, douleurs oculaires. Un contact prolongé avec une solution diluée peut provoquer une dermite.	Point d'éclair 80°C, limites d'inflammabilité 1,7–6 %.	Eviter d'inhaler les vapeurs; utiliser une protection respiratoire. Eviter tout contact avec la peau et les yeux. Travailler sous une sorbonne. Porter des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et consulter un médecin; en cas de contact cutané, ôter tous les vêtements contaminés et badigeonner la région touchée avec du glycérol, du polyéthylène-glycol 300 ou un mélange de polyéthylène-glycol liquide (70 %) et d'alcool dénaturé (30 %), puis rincer abondamment à l'eau.	Réagit avec les oxydants avec risque d'incendie et d'explosion.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Propanol-2 Isopropanol $(CH_3)_2CHOH$	Liquide incolore doté d'une odeur alcoolique; point de fusion –89°C, point d'ébullition 82°C; miscible à l'eau.	Irritant pour les yeux et les voies respiratoires. Peut agir sur le système nerveux central en provoquant céphalées, étourdissements, nausées, vomissements et coma.	Très inflammable; point d'éclair 112°C, limites d'inflammabilité 2,3–12,7 %.	Tenir les récipients bien fermés et à distance de toute source d'ignition. Travailler sous une sorbonne. Porter des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire.	Peut réagir vigoureusement avec les oxydants pour former des peroxydes instables en cas d'exposition prolongée à l'air et à la lumière.	La solution aqueuse de propanol-2 à 70–85 % utilisée en aérosol désinfectant présente tout de même un risque d'inflammation et ne doit pas être utilisée à proximité d'une source d'ignition.

Pyridine C_5H_5N	Liquide incolore doté d'une odeur caractéristique; point de fusion 42°C, point d'ébullition 115°C.	Agit sur le système nerveux central en provoquant des céphalées, des étourdissements, des nausées, un essoufflement et une perte de conscience. Peut traverser la barrière cutanée, en provoquant des rougeurs et une sensation de brûlure. L'ingestion entraîne des douleurs abdominales, de la diarrhée, des vomissements, de la faiblesse. Une exposition répétée peut provoquer des troubles hépatiques et rénaux.	Très inflammable; point d'éclair 20°C; limites d'explosibilité 1,8–12,4 %. Dégagement de vapeurs ou de gaz irritants ou toxiques en cas d'incendie. Les mélanges air/vapeurs sont explosifs.	Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation des vapeurs ou porter une protection respiratoire; porter des gants et des vêtements protecteurs.	Réagit violemment avec les oxydants énergiques et les acides forts.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Sélénium Se	Solide inodore se présentant sous diverses formes : solide amorphe brun-rouge foncé à bleu-noir, cristaux de couleur rouge, transparents, ou gris métallique à noir. Point de fusion 170°C–217°C, point d'ébullition 685°C.	Irritant pour les yeux et la peau. L'inhalation de la poussière peut provoquer un œdème pulmonaire. Chute des ongles et troubles gastro-intestinaux en cas d'exposition répétée.	Combustible. Dégagement de vapeurs ou de gaz irritants ou toxiques en cas d'incendie.	Eviter la dispersion de la poussière. Observer une hygiène rigoureuse. Travailler avec un dispositif local d'évacuation des vapeurs. Porter des gants et des vêtements protecteurs ainsi qu'une protection oculaire.	Réagit violemment avec les oxydants et les acides forts. Réagit avec l'eau à 50°C en formant de l'hydrogène inflammable et de l'acide sélénieux. Réagit avec incandescence par chauffage ménagé en présence de phosphore et de métaux comme le nickel, le potassium, le platine, le sodium et le zinc.	

Sulfure d'hydrogène Hydrogène sulfuré H_2S	Gaz incolore à forte odeur d'œufs pourris; point de fusion –85°C, point d'ébullition –60°C.	Les effets qui peuvent se produire sur le système nerveux central entraînent des céphalées, des étourdissements, de la toux, des maux de gorge, des nausées, des difficultés respiratoires, une perte de conscience et la mort. L'inhalation peut provoquer une œdème pulmonaire. Rougeur, douleurs, brûlures graves et profondes au niveau des yeux.	Extrêmement inflammable; limites d'explosibilité 4,3–46 %.	Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation. Porter des lunettes de protection à coques ou un masque respiratoire complet.	Oxydants énergiques et acide nitrique concentré. Attaque de nombreux métaux et plastiques.	L'odorat est vite saturé et ne constitue pas un moyen fiable de déceler ce gaz si celui-ci est présent en permanence.
Tellurite de potassium K_2TeO_3	Cristaux blancs déliquescents; très soluble dans l'eau.	Toxique par ingestion ou inhalation de la poussière. Irritant pour la peau et les yeux.		Porter des vêtements protecteurs.		
Tétrachlorure de carbone CCl_4	Liquide incolore à l'odeur éthérée caractéristique; point de fusion –23°C, point d'ébullition 76,5°C.	Peut traverser la barrière cutanée; risque de dermite en cas d'exposition prolongée. Irritant pour les yeux. Peut provoquer des lésions hépatiques et rénales et des troubles neurologiques centraux se traduisant par des céphalées, des nausées, un léger ictère, une perte d'appétit et une narcose. Cancérogène pour l'animal.	Non combustible. En cas d'incendie, dégagement de vapeurs ou de gaz irritants ou toxiques.	Eviter tout contact. Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation des vapeurs ou porter une protection respiratoire; porter des gants en caoutchouc nitrile, des vêtements protecteurs ainsi qu'un écran facial ou un masque respiratoire complet.	Se décompose par contact avec des surfaces chaudes ou des flammes avec formation de vapeurs ou de gaz toxiques et corrosifs (chlorure d'hydrogène, chlore, phosgène). Réagit avec certains métaux comme l'aluminium, le magnésium et le zinc.	

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Tétrahydrofuranne C_4H_8O Oxyde de diéthylène Oxyde de tétra-méthylène	Liquide incolore doté d'une odeur éthérée caractéristique; point de fusion –108,5°C, point d'ébullition 66°C.	Dépression du système nerveux central conduisant à une narcose. Irritant pour les yeux, la peau et les voies respiratoires.	Très inflammable; peut former des peroxydes explosifs; point d'éclair –14°C. L'eau peut se révéler inefficace pour combattre des feux de tétrahydrofuranne, mais on peut s'en servir pour refroidir les récipients exposés au feu.	Travailler sous ventilation, avec un dispositif local d'évacuation des vapeurs ou en portant une protection respiratoire, des gants ainsi que des lunettes de sécurité.	Réagit violemment avec les oxydants énergiques et les bases fortes, ainsi qu'avec certains halogénures métalliques, avec risque d'incendie et d'explosion. Attaque certains types de plastique, de caoutchoucs et de revêtements. Le tétrahydrofuranne peut se polymériser en présence d'initiateurs de polymérisation cationiques. Le chauffage à reflux avec de l'hydroxyde de calcium peut provoquer des explosions.	

Tétroxyde d'osmium OsO_4	Cristaux jaune pâle dégageant une odeur pénétrante; point de fusion 40°C, point d'ébullition 130°C; se sublime en-dessous de son point d'ébullition; soluble dans l'eau.	Très toxique en cas d'inhalation, d'ingestion ou de contact cutané, avec forte irritation, voire brûlures graves. Les vapeurs, le solide et les solutions sont corrosives pour la peau et les voies respiratoires; l'inhalation peut causer un œdème pulmonaire.	Oxydant énergique. Non combustible, mais facilite la combustion d'autres substances.	Tenir les récipients bien fermés, dans un local bien ventilé. Manipuler le solide et les solutions sous une sorbonne ou une hotte. Porter des gants protecteurs et des lunettes à coques pour laboratoire de chimie. Pour préparer les solutions, introduire l'ampoule fermée dans le volume d'eau voulu, boucher et agiter jusqu'à rupture de l'ampoule.	
o-Tolidine 3,3′-diméthyl-(1,1′-biphényl)-4,4′-diamine $(CH_6\text{-}(3CH_3)\text{-}(4NH_2))_2$	Cristaux incolores; point de fusion 131°C, point d'ébullition 200°C; peu soluble dans l'eau.	Nocif en cas de contact cutané ou d'ingestion. La poussière est irritante pour les voies respiratoires et les yeux. Probablement cancérogène pour l'homme.	Combustible. Dégagement de vapeurs ou de gaz toxiques ou irritants en cas d'incendie.	Eviter tout contact; porter une protection oculaire et des gants.	Oxydants.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Toluène Méthylbenzène C_7H_8	Liquide incolore doté d'une odeur caractéristique; point de fusion –95°C, point d'ébullition 111°C; non miscible à l'eau.	Dépression du système nerveux central. Irritant pour les yeux, les muqueuses et la peau. Une exposition répétée peut avoir des effets indésirables sur la reproduction et le développement humains.	Très inflammable; les vapeurs peuvent causer un embrasement instantané; point d'éclair 4°C; limites d'inflammabilité 1,4–7 %. Produits d'extinction en cas de feu limité : produits secs, anhydride carbonique, mousse, brumisation d'eau ou gaz inerte (azote).	Tenir les récipients hermétiquement fermés et à distance de toute source d'ignition; mettre les récipients à la terre pour éviter les décharges d'électricité statique. Eviter d'inhaler les vapeurs; porter une protection respiratoire. Travailler sous une sorbonne ou dans un endroit bien ventilé. Porter des gants en caoutchouc nitrile.	Peut réagir avec les acides et les bases fortes ainsi qu'avec les oxydants.	

Trichoréthylène $CHClCCl_2$	Liquide incolore à odeur caractéristique; point de fusion –73°C, point d'ébullition 87°C.	Irritant pour les yeux et la peau; une exposition prolongée peut provoquer une dermite et des troubles du système nerveux central conduisant à des pertes de mémoire. Possibilité de troubles hépatiques et rénaux. Probablement cancérogène pour l'homme.	Combustible dans certaines conditions.	Travailler sous ventilation ou avec un dispositif local d'évacuation. Porter des gants, des lunettes de sécurité ou autre type de protection oculaire avec une protection respiratoire ou un masque complet.	En cas de contact avec des surfaces chaudes ou une flamme, se décompose en produisant des gaz toxiques et corrosifs (phosgène, chlorure d'hydrogène). Décomposition en présence de bases alcalines fortes avec formation de dichloracétylène; réaction violente avec les métaux tels que l'aluminium, le baryum, le magnésium et le titane à l'état pulvérulent; lente décomposition en présence d'humidité, avec formation d'acide chlorhydrique.

PRODUIT CHIMIQUE	PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	RISQUES POUR LA SANTÉ	RISQUE D'INCENDIE	PRÉCAUTIONS À PRENDRE	INCOMPATIBILITÉS CHIMIQUES	AUTRES RISQUES
Xylène (mélanges d'isomères) Diméthylbenzène $C_6H_4(CH_3)_2$	Liquide incolore dégageant une odeur aromatique; point de fusion –95 à –13°C, point d'ébullition 136–145°C; insoluble dans l'eau.	Peut provoquer des troubles du système nerveux central se traduisant par des céphalées, des étourdissements, de la fatique et des nausées. Le liquide et les vapeurs sont irritants pour les yeux, la peau, les muqueuses et les voies respiratoires. Nocif en cas d'ingestion. Un contact cutané prolongé peut provoquer une délipidation cutanée. Déficit neurologique non spécifique. L'exposition peut accroître les lésions auditives provoquées par le bruit. L'expérimentation animale incite à penser que ces produits exercent des effets indésirables sur la reproduction et le développement humains.	Liquide inflammable; point d'éclair 27–32°C.	Eviter tout contact avec les yeux. Porter des gants en caoutchouc nitrile et une protection oculaire. Tenir les récipients hermétiquement fermés et à distance de toute source d'ignition.		Peut contenir de l'éthybenzène comme impureté. L'éthybenzène pourrait être cancérogène pour l'homme.

Index